

ACADEMIA JOURNALS



OPUS PRO SCIENTIA ET STUDIUM

Humanidades, Ciencia, Tecnología e Innovación en Puebla

ISSN 2644-0903 online

Vol. 4. No. 1, 2022

www.academiajournals.com

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN AUSPICIADO POR EL
CONVENIO CONCYTEP-ACADEMIA JOURNALS



Gobierno de Puebla

Hacer historia. Hacer futuro.



Secretaría
de Educación
Gobierno de Puebla

CONCYTEP
Consejo de Ciencia
y Tecnología del Estado
de Puebla

Laura González Ibáñez

Estudio de dosis letal y toxicidad de la ingesta aguda de extractos del
hongo medicinal *Ganoderma lucidum* en modelo animal

Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla

Directora: Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Asesora: Dra. Zaida Nelly Juárez

Asesora: Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Estudio de dosis letal y toxicidad de la ingesta aguda de extractos del hongo medicinal *Ganoderma lucidum* en modelo animal

Protocolo, que para obtener el Título de
Ingeniero en Biotecnología
por la opción de titulación (1) TESIS, *presenta:*

Laura González Ibáñez

Directora: Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Asesora: Dra. Zaida Nelly Juárez

Asesora: Dra. Elizabeth Bautista Rodríguez



Puebla, Pue., México

20 de julio del 2018

RESUMEN

Laura González Ibáñez

Actualmente, se ha incrementado la producción de alimentos funcionales y nutraceuticos como una estrategia para disminuir y prevenir enfermedades. En este contexto, los hongos son valorados por su aporte nutrimental a la dieta humana y propiedades funcionales. *G. lucidum*, hongo no comestible funcional contiene compuestos bioactivos como terpenoides, polisacáridos y proteínas que muestran efectos positivos a la salud. La ingesta de extractos de *G. lucidum* ha mostrado efectos hipocolesterolemiantes, hipoglucémicos y prebióticos que disminuyen el riesgo de padecer diversas patologías. En México, no se han realizado trabajos acerca de la toxicidad de los extractos mexicanos de *G. lucidum* (cepa CP-145), además, la escasa información existente que hay a nivel internacional es de especies extranjeras y no puede extrapolarse a las especies mexicanas debido a las diferentes condiciones de crecimiento que modifican las propiedades y contenido del extracto. Por tanto, en el presente estudio se evaluó la toxicidad aguda del extracto de *G. lucidum* en ratas Wistar acorde al protocolo 423 de la OECD/OCDE. Se formaron 5 grupos experimentales con 6 ratas (3 hembras y 3 machos) cada uno. Se utilizaron dosis orales crecientes del extracto de *G. lucidum* (300, 1000, 2000 y 5000 mg/kg de peso corporal). Se llevó un registro de la ingesta, peso y comportamiento durante 14 días. Se analizaron parámetros bioquímicos en sangre y orina complementándose con un examen histopatológico de las secciones hepáticas y renales. No se observaron cambios en el comportamiento, ingesta y peso corporal de las ratas. Las concentraciones de glucosa y perfil lipídico en plasma se mantuvieron estables. Los parámetros relacionados con daño hepático (transaminasas) e inflamación (proteína C reactiva) no mostraron diferencias significativas entre los grupos experimentales. Asimismo, en los valores asociados a daño renal (albúmina, creatinina, urea, glucosa en orina y nitrógeno uréico) obtenidos no se observaron cambios significativos que indiquen una lesión o inflamación renal en las ratas. Las histopatologías mostraron citoarquitectura normal, sin daños en los tejidos. Por lo que, la ingesta aguda del extracto de *G. lucidum* no causó muerte, toxicidad y daño en la función hepática y renal en las ratas en ninguna de las dosis empleadas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	2
ÍNDICE GENERAL	3
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
INTRODUCCIÓN	12
1. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES	15
1.1. Enfermedades relacionadas con la nutrición.....	15
1.2. Alimentos funcionales	18
1.3. Alimentos nutraceuticos	20
1.4. Compuestos químicos en alimentos nutraceuticos	21
1.4.1 Antioxidantes.....	21
1.4.2 Fibra dietética	23
1.4.3 Ácidos grasos y fitoesteroles	24
1.5. Hongos comestibles y medicinales como alimento nutraceutico	25
1.6. Hongo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i>	26
1.6.1 Historia de <i>Ganoderma lucidum</i>	26
1.6.2 Características generales del hongo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i>	26
1.6.3 Características biológicas del hongo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i>	26
1.6.4 Morfología del hongo medicinal <i>Ganoderma lucidum</i>	28
1.6.5 Clasificación de <i>Ganoderma lucidum</i>	29
1.6.6 Compuestos bioactivos de <i>Ganoderma lucidum</i> y sus propiedades funcionales y nutraceuticas	31
1.6.6.1. Compuestos terpenoides	33
1.6.6.2. Polisacáridos	35

1.6.6.3. Proteínas.....	38
1.6.6.4. Efecto antitumoral e inmunomodulador	39
1.6.6.5. Actividad hepatoprotectora	41
1.6.6.6. Efecto antidiabético.....	42
1.6.6.7. Efecto en enfermedades cardiovasculares.....	44
1.7. Biotecnología aplicada a los hongos comestibles y medicinales.....	45
1.7.1. Cultivo de <i>Ganoderma lucidum</i>	46
1.7.2. Cultivo de la cepa CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i>	48
1.7.3. Adición de ácido acetilsalicílico al sustrato de la cepa CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i>	49
1.8. Propiedades de los extractos de <i>Ganoderma lucidum</i>	50
1.9. Estudios de dosis letal.....	52
1.9.1. Estudios de toxicidad en <i>Ganoderma Lucidum</i>	57
1.10. <i>Ganoderma lucidum</i> en relación a enfermedades hepáticas	62
1.11. Marcadores en plasma y orina por daño hepático	64
1.11.1 Marcadores en plasma	64
1.11.2. Marcadores en orina	67
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	69
3. JUSTIFICACIÓN	70
4. HIPÓTESIS	71
5. OBJETIVOS	72
5.1. Objetivo general.....	72
5.2. Objetivos específicos	72
6. ALCANCES Y LIMITACIONES	73
6.1. Alcances.....	73

6.2. Limitaciones.....	73
7. METODOLOGÍA.....	74
7.1. Animales	74
7.2. Diseño experimental	76
7.3. Prueba de toxicidad aguda	77
7.4. Parámetros bioquímicos del suero	77
7.5. Parámetros bioquímicos de orina.....	78
7.6. Histologías del hígado y riñón.....	78
7.7. Análisis estadístico	80
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	81
8.1. Efectos del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> en el comportamiento y cambios físicos en ratas	81
8.2. Efecto de las dietas experimentales con extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> en el peso corporal y en la ingesta de alimentos en ratas.....	83
8.3. Efecto de las dietas experimentales con extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> en el peso de hígado y riñón	88
8.4. Efecto de las dietas experimentales con extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> sobre la glucosa y el perfil lipídico en suero	92
8.5. Efecto de las dietas experimentales con extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> sobre valores en suero relacionados con daño hepático e inflamación	102
8.6. Efectos del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> en los parámetros de orina.....	114
8.7. Efecto histológico del extracto de <i>Ganoderma lucidum</i> , sobre riñón e hígado	122
9. CONCLUSIÓN.....	126
10. BIBLIOGRAFÍA	127
11. ANEXOS	147
11.1 Solución de formalina 10%.....	147

11.2 Solución salina 9%147

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Componentes y propiedades de alimentos funcionales	19
Tabla 2 Compuestos fenólicos en alimentos nutraceuticos	21
Tabla 3 Clasificación general de antioxidantes en alimentos nutraceuticos.....	22
Tabla 4. Clasificación global de la fibra dietética	23
Tabla 5 Ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) importantes a nivel nutricional	24
Tabla 6 Ácidos grasos omega-6 (PUFA n-6) importantes a nivel nutricional	24
Tabla 7 Los seis tipos de <i>Ganoderma lucidum</i>	29
Tabla 8 Distribución en México de especies de <i>Ganoderma</i>	30
Tabla 9 Principales compuestos en <i>Ganoderma lucidum</i>	31
Tabla 10 Compuestos bioactivos de <i>G. lucidum</i> y sus efectos a la salud.....	32
Tabla 11 Métodos de extracción de compuestos bioactivos en hongos	47
Tabla 12 Composición de los extractos de <i>G. lucidum</i> (cepa CP-145)	52
Tabla 13 Especies animales comúnmente utilizadas en estudios toxicológicos regulados	53
Tabla 14 Factores que influyen en los ensayos de DL ₅₀	54
Tabla 15 Protocolos de la OECD para evaluar la toxicidad en animales	56
Tabla 16 Estudios de toxicidad de <i>G. lucidum</i>	58
Tabla 17 Valores de referencia en perfil hepático humano	63
Tabla 18 Principales causas de enfermedad hepática	63
Tabla 19 Factores que alteran ALT y AST.....	64
Tabla 20 Indicadores en pruebas de daño hepático	65
Tabla 21 Nuevos biomarcadores de lesión renal	68
Tabla 22 Formulación de la dieta AIN93	74
Tabla 23 Dietas experimentales con dieta base (AIN93) más extracto hidroalcohólico de <i>Ganoderma lucidum</i> al 32%	75
Tabla 24 Tren de deshidratación para muestras de hígado y riñón	79
Tabla 25 Análisis en los cambios físicos y de comportamiento en ratas machos durante el estudio.....	81
Tabla 26 Análisis en los cambios físicos y de comportamiento en ratas hembras durante el estudio.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasa de mortalidad por enfermedades isquémicas del corazón.	16
Figura 2. Etapas de salud, nutrición y cambios demográficos	17
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Ganoderma lucidum</i>	27
Figura 4. Morfología de <i>Ganoderma lucidum</i>	28
Figura 5. Ejemplos de diferentes tipos de terpenoides aislados de <i>Ganoderma lucidum</i>	33
Figura 6. Ejemplo de polisacárido aislado de <i>Ganoderma lucidum</i>	35
Figura 7. Vías de traducción intracelular de la insulina.	36
Figura 8. Posibles blancos moleculares de <i>G. lucidum</i>	39
Figura 9. Los mecanismos para el efecto preventivo y antitumoral del tumor de <i>G. lucidum</i>	40
Figura 10. Los efectos inmunomoduladores de <i>G. lucidum</i>	40
Figura 11. Posibles mecanismos para los efectos hepatoprotectores de <i>G. lucidum</i>	42
Figura 12. Regulación de genes en vías metabólicas manipuladas por GLSP en la dieta de ratas diabéticas de tipo 2.....	43
Figura 13. Principales objetivos de un análisis de toxicidad aguda.	54
Figura 14. Regla 3R.....	55
Figura 15. Biomarcadores de lesión renal según su localización y sitio de expresión en los diferentes segmentos de la nefrona.....	68
Figura 16. Elaboración de dietas experimentales con con dieta base (AIN93) más extracto hidroalcohólico de <i>Ganoderma lucidum</i> al 32%.	75
Figura 17. Pesaje de ratas hembras y machos durante el estudio.	77
Figura 18. Proceso para la preparación y tinción de tejidos.....	78
Figura 19. Procedimiento de histologías de hígado y riñón.	80
Figura 20. Peso corporal de ratas machos durante el estudio.....	84
Figura 21. Peso corporal de ratas hembras durante el estudio.	84
Figura 22. Ganancia de peso corporal de ratas hembras y machos al final del estudio.	85
Figura 23. Ingesta de alimentos en ratas machos al final del estudio.....	86
Figura 24. Ingesta de alimentos en ratas hembras al final del estudio.	87
Figura 25. Ingesta de alimentos en ratas hembras y machos al final del estudio.	87
Figura 26. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas machos.	88
Figura 27. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas hembras.....	89

Figura 28. Efecto de las dietas experimentales en el peso del riñón en ratas machos.....	89
Figura 29. Efecto de las dietas experimentales en el peso del riñón en ratas hembras.	90
Figura 30. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas machos y hembras.....	90
Figura 31. Efecto de las dietas experimentales en el peso de riñón en ratas machos y hembras.	91
Figura 32. Muestras de hígado después de la ingesta de las dietas experimentales en ratas machos y hembras.	91
Figura 33. Muestras de riñón después de la ingesta de las dietas experimentales en ratas machos y hembras.	92
Figura 34 Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas machos.	93
Figura 35. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas hembras.....	93
Figura 36. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas machos y hembras.	94
Figura 37. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas machos.....	95
Figura 38. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas hembras.	96
Figura 39. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas machos y hembras.....	96
Figura 40. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas machos.	97
Figura 41. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas hembras.	98
Figura 42. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas hembras.....	98
Figura 43. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas machos.....	99
Figura 44. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas machos y hembras.....	99
Figura 45. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas machos y hembras.	100
Figura 46. Efecto de las dietas experimentales en los triglicéridos de ratas machos	100
Figura 47. Efecto de las dietas experimentales en los triglicéridos de ratas hembras.....	101
Figura 48. Efecto de las dietas experimentales en triglicéridos de ratas machos y hembras..	101
Figura 49. Efecto de las dietas experimentales en la alanino aminotransferasa de ratas machos.....	103
Figura 50. Efecto de las dietas experimentales en el aspartato aminotransferasa de ratas machos.....	103

Figura 51. Efecto de las dietas experimentales en la alanino aminotransferasa de ratas hembras.....	104
Figura 52. Efecto de las dietas experimentales en el aspartato aminotransferasa de ratas hembras.....	104
Figura 53. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas machos.	106
Figura 54. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas hembras.	106
Figura 55. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas hembras y machos..	107
Figura 56. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas machos....	108
Figura 57. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas hembras ..	108
Figura 58. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas machos y hembras.....	109
Figura 59. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas machos..	110
Figura 60. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas hembras.	110
Figura 61. Efecto de las dietas experimentales en creatinina de ratas machos y hembras.....	111
Figura 62. Efecto de las dietas experimentales en la urea de suero de ratas machos.....	112
Figura 63. Efecto de las dietas experimentales en la urea de suero de ratas hembras.....	112
Figura 64. Efecto de las dietas experimentales en urea de ratas machos y hembras.....	113
Figura 65. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas machos.	114
Figura 66. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas hembras.....	115
Figura 67. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas machos y hembras.....	115
Figura 68. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas machos.....	116
Figura 69. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas hembras.....	117
Figura 70. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas machos y hembras.....	117
Figura 71. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina en orina de ratas machos.. ..	118
Figura 72. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas machos.	119
Figura 73. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas hembra.....	119
Figura 74. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina en orina de ratas hembras ...	120
Figura 75. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas machos y hembras.	120

Figura 76. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas machos y hembras.....	121
Figura 77. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre los hepatocitos (hígado) en ratas machos.....	122
Figura 78. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre los hepatocitos (hígado) en ratas hembras.....	123
Figura 79. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre el corpúsculo renal en ratas machos.	125
Figura 80. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de <i>G. lucidum</i> sobre el corpúsculo renal en ratas hembras.....	125

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen cuatro enfermedades relacionadas con problemas nutricionales causantes de la mayoría de muertes en el mundo: las enfermedades cardiovasculares (ECV), hipertensión arterial, el cáncer y la diabetes. Los cambios drásticos en la alimentación han llevado a una “transición nutricional” donde las dietas ricas en azúcares añadidos y grasas animales están sustituyendo a las dietas tradicionales de alimentos de origen natural (OMS & FAO, 2003). El sobrepeso, obesidad y ECV cada vez afectan a más personas en todo el mundo, cifras estimadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que en el año 2014 más de 1900 millones de adultos presentaban sobrepeso, de los cuales, más de 600 millones eran obesos, así como 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos. En África, el número de niños con sobrepeso u obesidad prácticamente se ha duplicado, de 5,4 millones en 1990 a 10,6 millones en 2014; ante estas cifras el sobrepeso y la obesidad ya no se consideran un problema propio de los países de ingresos altos, actualmente ambos trastornos aumentan en los países de ingresos bajos y medianos, en particular en los entornos urbanos (OMS, 2016). Por tanto, las cifras de las ECV y diabetes van en aumento por lo que, es necesario realizar cambios en los hábitos alimenticios desde la producción alimentaria hasta el consumo para disminuir las enfermedades crónicas y contrarrestar los principales factores que ocasionan estas enfermedades, los cuales son principalmente la mala alimentación debido a las condiciones y estilo de vida actual.

Existen diversos tratamientos para controlar estas enfermedades crónicas a través de cambios en la alimentación, estilo de vida, actividad física e incluso el uso de medicamentos para bajar de peso o reducir el colesterol bajo vigilancia de un experto (National Heart, Lung, and Blood Institute, 2012). Por ello, las estrategias nutricionales son esenciales para promover la salud e intervenir con estas enfermedades no transmisibles. La principal función de la alimentación es aportar los nutrientes necesarios para satisfacer las necesidades metabólicas de las personas, mediante los macronutrientes y micronutrientes del alimento, no obstante, como sociedad nos preocupa aumentar la expectativa de vida con una adecuada nutrición. En este ámbito, los alimentos funcionales y los nutraceuticos son una estrategia nutricional accesible para el consumidor. Actualmente existe la evidencia del consumo de alimentos funcionales y nutraceuticos con compuestos bioactivos, son beneficiosos para el organismo ya que

contribuyen al control y prevención de enfermedades asociadas a la nutrición. El consumo de alimentos funcionales debido a su contenido de fibra, esteroides vegetales y estanoles, antioxidantes y minerales, entre otros, reducen los factores de riesgo relacionados con las ECV y diabetes, como son los altos niveles en sangre de colesterol total y el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), así como el bajo nivel de lipoproteínas de alta densidad (HDL), entre otros (Torres *et al.*, 2015). Ante estas circunstancias, en las últimas décadas se han estudiado diversos hongos comestibles y medicinales debido a su actividad biológica, antioxidante, hipocolesterolemica, hipoglucémica, antiviral y reguladora del sistema cardiovascular. Además, se ha intensificado a nivel mundial no solo el cultivo, sino el consumo de hongos y el estudio de sus compuestos bioactivos que les confieren propiedades funcionales y nutraceuticas, que previenen y/o controlan los factores de riesgo mencionados, debido a su efecto en la regulación del metabolismo de lípidos, carbohidratos, entre otros beneficios ante su consumo (Mattila, Suonpää, & Piironen, 2000).

En China el hongo *Ganoderma lucidum* o Reishi es ampliamente consumido en extracto o polvo (cápsulas) como alimento nutraceutico para el tratamiento de diversas enfermedades. *G. lucidum* está principalmente compuesto por polisacáridos (β -D-glucanos), triterpenoides (ácido ganodérico), esteroides y aminoácidos (Solomon, 2005). Los extractos de *G. lucidum* elaborados a partir de procesos biotecnológicos como la modificación de nutrientes en el cultivo potencializan los compuestos bioactivos del hongo. Se ha demostrado que la ingesta de extractos de cepas mexicanas de *G. lucidum* tiene efectos antihipercolesterolemiantes y prebióticos mediante diferentes mecanismos de acción, entre ellos la disminución de los diferentes niveles de colesterol total, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) mediado por α -glucanos y β -glucanos, los cuales promueven una mayor excreción de los ácidos biliares y modifican la microbiota intestinal (Meneses *et al.*, 2016).

G. lucidum por su naturaleza presenta toxicidad fúngica debido a la producción de micotoxinas derivadas de su metabolismo intermedio. Aunque se están realizando extensas investigaciones para determinar sus propiedades inmunoestimuladoras, no hay esencialmente datos sobre la toxicidad o la posibilidad de efectos adversos en el consumo a largo plazo de *G. lucidum* y/o sus variedades comerciales. Respecto al consumo de los extractos o compuestos

bioactivos con diferentes niveles de purificación de los hongos comestibles, funcionales y medicinales no se han registrado efectos adversos en la salud humana, sin embargo, un estudio realizado por la Universidad de Western Ontario demostró que el extracto crudo de *G. lucidum* y el extracto de polisacáridos (PSGL) en altas concentraciones ($\geq 100 \mu\text{g/ml}$) causa toxicidad en las células B y afectan la viabilidad en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) después de 24 y 48 horas de su ingesta en adultos y niños sanos (Gill & Rieder, 2008). En contraste, en China analizaron la toxicidad aguda y acumulativa de las cápsulas comerciales *G. lucidum* Spore Powder en ratones, concluyendo que el valor de LD₅₀ es mayor a 21.5 g/kg peso corporal (Department of health and human services food and drug administration, 1999). Por otro lado, no hay información de toxicidad en extractos elaborados a partir de cepas mexicanas. Por tanto, el propósito de esta investigación es evaluar y determinar la toxicidad aguda oral en ratas Wistar de los extractos de una cepa mexicana de *G. lucidum* que han sido desarrollados por el Colegio de Posgraduados, *Campus* Puebla, mediante procesos que involucran la adición de ácido acetilsalicílico en el sustrato para un mejor crecimiento y potencialización de compuestos bioactivos de *G. lucidum*. Asimismo, esta investigación contribuirá para futuras aplicaciones clínicas y desarrollo de estrategias para el control de enfermedades asociadas a una inadecuada nutrición.

1. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

1.1. Enfermedades relacionadas con la nutrición

La situación global sobre el tema de la nutrición ha preocupado a varios países a medida que han decidido invertir en la investigación, la enseñanza y las actividades relacionadas con la prevención de enfermedades crónicas vinculadas con la alimentación. Estas incluyen obesidad, arteriosclerosis, enfermedad coronaria, hipertensión, ciertos tipos de cáncer, osteoporosis, algunas enfermedades hepáticas y renales, diabetes mellitus, entre otras (FAO, s.f.). Se estima que para el año 2020, dos tercios de la población mundial de los países en desarrollo será afectada por enfermedades ocasionadas por factores dietéticos (Chopra *et al.*, 2002). Hoy en día, se observa un impacto nutricional importante debido a una transición demográfica y socioeconómica en el mundo.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) en México, las enfermedades cardiovasculares y diabetes son principales causas de mortalidad en la población mexicana (OMS, 2016a). El 14% de la población muere a causa de la diabetes, y un 24 % por ECV. En el caso de la diabetes, 23 100 hombres y 22 000 mujeres en un rango de edad de entre 30-39 años murieron en el año 2016 por dicho factor. Para el mismo año, se mostró que la prevalencia de diabetes se encontraba con un 9.7 % en hombres y 11% en mujeres en la población mexicana, se espera que estos porcentajes incrementen conforme al tiempo (OMS, 2016b). Acorde a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino (ENSANUT MC) obtuvo resultados similares a los reportados por la OMS, ya que la prevalencia de diabetes en el país pasó de 9.2% en 2012 a 9.4% en 2016, en base a un diagnóstico previo de la enfermedad. Entre esta población, las mujeres reportan mayor prevalencia de diabetes (10.3%) que los hombres (8.4%), la tendencia de aumento se observa tanto en localidades urbanas (10.5% en mujeres y 8.2% en hombres) como en rurales (9.5% en mujeres, 8.9% en hombres) (ENSANUT, 2016).

En nuestro país, la tendencia de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares, específicamente por isquemia cardiaca continúa creciendo de forma gradual. Entre 2000 y 2014 el aumento fue de poco más de 58%, pasando de 43.5 muertes por cien mil habitantes al inicio del periodo, a 68.6 en 2014 (**Figura 1**). El incremento fue más acelerado en los hombres, por lo que la brecha entre éstos y las mujeres se ha ampliado paulatinamente (INEGI, 2014). En el año 2016 se reportó una cantidad de 291 637 personas fallecidas por esta causa (INEGI, 2016).

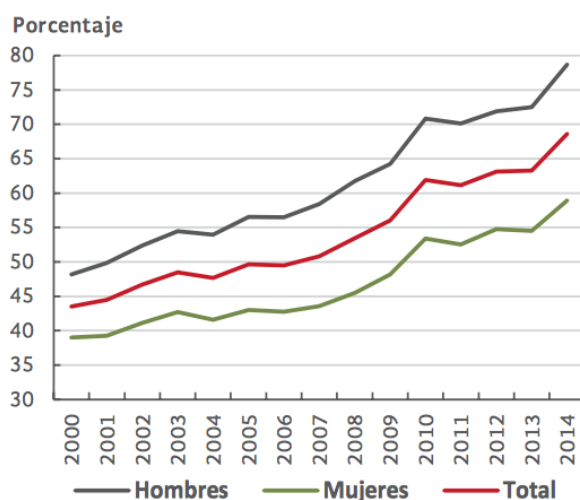


Figura 1. Tasa de mortalidad por enfermedades isquémicas del corazón, 2000-2014. (INEGI/SS. 2014).

Existen poblaciones que presentan enfermedades crónicas relacionadas con la pobreza y la desnutrición y otras relacionadas con la abundancia, estilos de vida más sedentarios y exceso del consumo de comida rápida. Las implicaciones de la transición o de la coexistencia de diversas condiciones nutricionales en dos segmentos de la población presentan un serio problema de salud pública. El consumo excesivo de grasas, colesterol, sodio y una ingesta baja de frutas, hortalizas y fibras, junto con estilos de vida sedentarios, contribuyen en forma importante al aumento en la incidencia de enfermedades crónicas de los segmentos más pudientes en la mayoría de comunidades del mundo. Se sugiere la implementación del racionamiento adecuado de los alimentos en ambos segmentos de la población y fomentar la educación en nutrición para el consumo de alimentos de alto valor nutritivo de la región con propiedades funcionales con el objetivo de disminuir la desnutrición y el sobrepeso y obesidad (FAO, s.f.).

La globalización se encuentra ligada a los rápidos cambios socioeconómicos, demográficos y tecnológicos; esto forma parte de la evolución y genera el proceso de la transición epidemiológica (Caballero & Popkin, 2002). Los seres humanos han sufrido cambios importantes en su actividad física y su estado nutricional debido a este proceso de transición. De acuerdo a Popkin la transición se ve afectada a nivel epidemiológico, demográfico y nutricional. En la **Figura 2** se pueden observar estas interrelaciones.

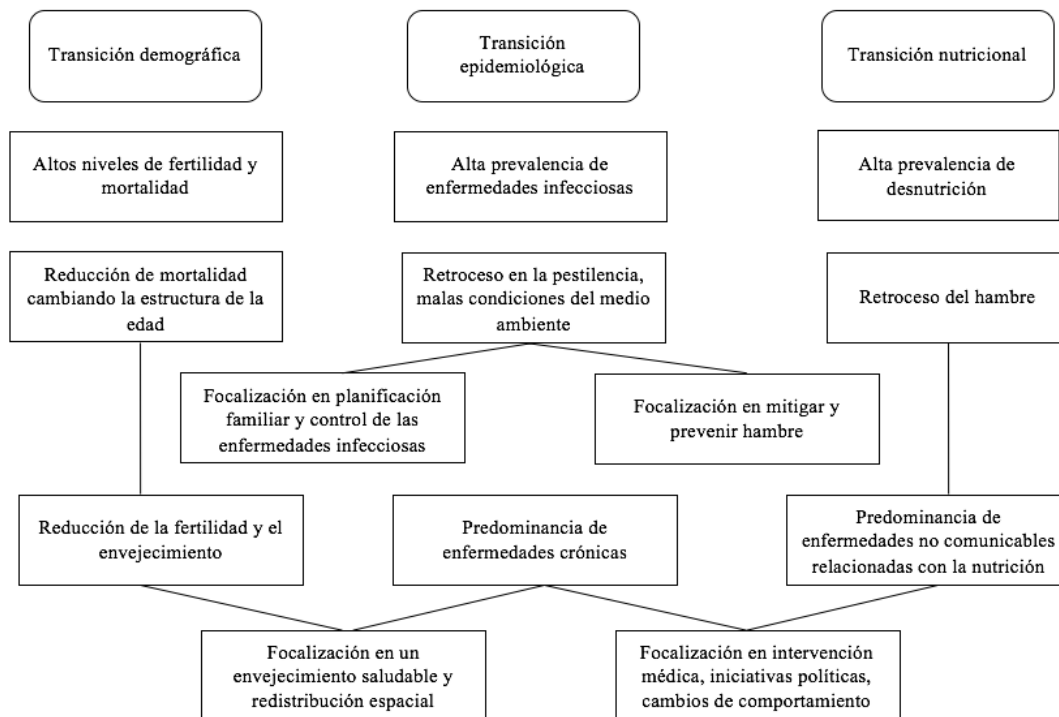


Figura 2. Etapas de salud, nutrición y cambios demográficos. (Popkin B. 2002).

1.2. Alimentos funcionales

Los expertos en nutrición recomiendan a los consumidores seguir una dieta sana, variada y equilibrada, que involucre el consumo de alimentos tradicionales como frutas, verduras, carnes y lácteos para asegurar una buena salud y prevenir enfermedades. En la actualidad, los nuevos estilos de vida han afectado los hábitos de alimentación saludable debido a la falta de tiempo para cocinar, estrés e incremento en la demanda de comida rápida que conduce a que las personas no sigan una alimentación equilibrada, y, por tanto, no ingieren las cantidades adecuadas de nutrientes que necesitan. En consecuencia, se ha incrementado la investigación y desarrollo de alimentos funcionales para contrarrestar la transición nutricional actual, ya que su consumo proporciona beneficios a la salud y previene las enfermedades crónicas (Aranceta & Serra, s.f.).

En los años 80s en Japón, el concepto de alimento funcional fue introducido por científicos que estudiaban la relación entre nutrición, satisfacción sensorial y fortificación como elementos favorecedores a la salud, creando así los alimentos “*Food with Specific Health Uses*” (FOSHU). Los alimentos FOSHU contienen componentes benéficos para la salud como prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros. También se considera un alimento FOSHU aquel que se le ha removido componentes que puedan tener un efecto perjudicial en la salud, por ejemplo, la remoción de elementos alérgenos, irritantes e hipercalóricos.

Existen diversas definiciones de los alimentos funcionales, las más objetivas son las elaboradas por el Consejo de Alimentación y Nutrición de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos que los define como "alimentos modificados o que contienen ingredientes que incrementan el bienestar del individuo o disminuyen los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los ingredientes que contienen" (American Dietetic Association, 2009). Otro de los conceptos es dado por el *International Life Science Institute* (ILSI) que los define como "alimentos que, en virtud de la presencia de componentes fisiológicamente activos, proveen beneficios para la salud más allá de la acción clásica de los nutrientes que contienen" (ILSI, 2009). Según el ILSI los alimentos funcionales pueden ser: alimentos naturales no modificados, alimentos a los que se les ha agregado algún componente que aporte

funcionalidad o proporcione beneficios, alimentos a los que se les ha sustraído un componente que pueda afectar la salud. Se emplean métodos químicos, enzimáticos o biotecnológicos para la modificación en los alimentos funcionales (Hernández, 2010).

Los alimentos funcionales aportan nutrientes a beneficio de acciones fisiológicas en el organismo y mejoran la salud del consumidor (Hasler, 1996; Ganeshpurkar, Rai & Jain., 2010). Los componentes de los alimentos funcionales pueden dividirse en cinco categorías: probióticos, prebióticos, simbióticos, nutrientes y no nutrientes (o compuestos bioactivos). La **Tabla 1** muestra algunos ejemplos de los componentes y beneficios de los alimentos funcionales.

Tabla 1. Componentes y propiedades de alimentos funcionales

Alimento funcional	Componente funcional	Propiedades
Huevos con ácidos grasos	Ácidos grasos tipo ω 3	Reducen colesterol total
Productos lácteos fermentados	Probióticos	Mejoran la salud gastrointestinal
Margarinas fortificadas	Ésteres de estanol y esteroleos vegetales	Reducen colesterol total y LDL
Té verde	Catequinas	Reducen el riesgo de algunos tipos de cáncer
Productos de avena	Beta- glucanos	Reducen colesterol total y LDL

Fuente: Vinchira, J. (2010).

Para la industria y el consumidor, los alimentos funcionales son una oportunidad para fomentar la salud a través de la nutrición, mejorando el estado de bienestar o reduciendo el riesgo de enfermar. No obstante, es indispensable contar con fundamentos científicos que demuestren los efectos beneficiosos de los alimentos funcionales, considerar que su ingesta aporta un mejoramiento en los mecanismos de defensa biológica, tener en cuenta que los alimentos funcionales son un producto en la frontera entre los alimentos convencionales y los suplementos dietéticos. Además, debe determinarse las cantidades máximas de estos alimentos en su consumo diario para no asociar ningún efecto adverso (Hernández, 2010).

1.3. Alimentos nutraceuticos

Los alimentos nutraceuticos son alimentos de origen natural con propiedades bioactivas que proveen beneficios mediante acciones terapéuticas en el organismo, previenen diversas enfermedades crónico degenerativas como la hipertensión, diabetes, cáncer, o simplemente mejoran el estado general de salud (González, 2015). El término nutraceutico fue dado por el endocrinólogo y farmacólogo clínico norteamericano Stephen De Felice, quien fue durante varios años presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina. Se trata de una nueva categoría de sustancias para el cuidado de la salud cuyo efecto se sustenta en los beneficios científicamente comprobados de algunos nutrientes y/o ciertos componentes de los alimentos de origen principalmente vegetal, aunque también se identifica a algunos de origen animal. Los alimentos nutraceuticos proveen beneficios para la salud, tienen propiedades bioactivas que se relacionan con su estructura química y muestran una acción terapéutica definida (IFT, 2007).

Asimismo, los nutraceuticos son productos que se extraen de fuentes naturales y se caracterizan mediante procesos biotecnológicos antidesnaturalizantes para la conservación de sus propiedades originales sin manipulación química. Al ser extraídos de su fuente natural, las sustancias obtenidas se pueden estudiar mediante procesos similares para la identificación de propiedades biológicas de los fármacos usados en animales y humanos (estabilidad temporal, análisis de estabilidad y toxicología, análisis químicos, estudios reproducibles de sus propiedades bioactivas, estudios en humanos y animales de experimentación). De igual forma, agencias reguladoras gubernamentales como la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos, la agencia alimentaria de la Unión Europea o el Ministerio de Salud y Bienestar Social de Japón han aprobado el desarrollo de alimentos funcionales a partir de hongos con propiedades nutraceuticas que se comercializan para el consumo humano a largo plazo sin riesgos colaterales (Arvanitoyannis, 2005). Actualmente, el mercado de los alimentos funcionales y nutraceuticos obtienen ganancias de billones de dólares a nivel mundial. En países como Estados Unidos, Japón, Corea, India y China, y en menor medida en varios países europeos, la tendencia del consumo de estos alimentos crece exponencialmente. En la industria farmacéutica se ha observado un desarrollo en los nutraceuticos como una interesante oportunidad económica y atractiva para los consumidores (libre venta, amplia disponibilidad y la promesa de un efecto benéfico) (Valenzuela *et al.*, 2014).

1.4. Compuestos químicos en alimentos nutraceuticos

Una amplia familia de los alimentos nutraceuticos posee propiedades benéficas, que van desde la prevención de la aterosclerosis, embolias o procesos inflamatorios y ataques cardíacos (González, 2016). Los siguientes compuestos químicos de los alimentos nutraceuticos son responsables de la actividad benéfica en la salud humana.

1.4.1 Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otros compuestos, frenan la formación de radicales libres y previenen enfermedades ocasionadas por estrés oxidativo. Por ejemplo, la vitamina C (ácido ascórbico) actúa como un cofactor enzimático. Su función antioxidante deriva de su capacidad de actuar como donante de electrones. Disminuye la peroxidación lipídica, los niveles de O^2 , H_2O_2 y del ion hipoclorito para mantener estables los niveles de glutatión peroxidasa y de vitamina E, participando en su reciclamiento. La vitamina C se recicla a su vez desde ácido dehidroascórbico, captura de radicales libres potencialmente tóxicos como los superóxido o hidroxilo (Andresen, 2006). La vitamina E (alfa tocoferol) actúa unida a membrana, es el principal antioxidante capaz de prevenir y bloquear la peroxidación lipídica y se asocia a una respuesta inmune apropiada. Neutraliza el oxígeno simple y peróxidos. Captura de radicales libres de hidroxilo y aniones de superóxido. Además, la vitamina E tiende a mejorar la glucemia y a disminuir la hemoglobina glicosilada (HbA1c) (Montier *et al.*, 2015). Otro ejemplo son los compuestos fenólicos, considerados metabolitos secundarios de las plantas. Su actividad antioxidante varía según su naturaleza (Martínez-Valverde, Periago & Ros, 2000) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Compuestos fenólicos en alimentos nutraceuticos

Compuesto	Información
Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos acéticos (Belitz & Grosch, 1988)	Dentro del grupo de fenoles, se encuentran distribuidos entre diversas especies vegetales, de igual manera los ácidos fenólicos son abundantes en plantas superiores y helechos.
Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles (Belitz & Grosch, 1988; Bravo, 1998).	Los ácidos cinámicos, por lo general están presentes en forma de derivados, las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido y los cromonoles, se forman a partir de antocianidinas ante el incremento del pH del medio.
Lignanós y neolignanós (Coronado, <i>et al.</i>, 2015).	Pertencen al grupo de fitoestrógenos y son antioxidantes que ayudan a combatir los efectos dañinos de los radicales libres.

Flavonoides (Porrás & López, 2009)	También denominados fitonutrientes, son responsables del color natural de los alimentos, como las antocianinas de colores rosa, escarlata, rojo, azul y violeta de los vegetales, jugos de frutas y vinos.
Taninos (Porrás & López, 2009)	Son responsables de precipitar algunas proteínas y alcaloides.

Nota: Elaborado por el autor

En general, los antioxidantes pueden dividirse en: fenólicos, carotenos y vitamínicos (González, 2016) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Clasificación general de antioxidantes en alimentos nutraceuticos

Tipo de antioxidantes	Fuente alimenticia	Aplicaciones
Compuestos fenólicos		
Fenoles, taninos, antocianinas, flavonoides, cumarinas, ligninas	Uvas, pasas, vino tinto, cerezas, fresas, ajo, espinacas, arándanos	Prevención colesterolemia, cáncer, y envejecimiento celular
Carotenos		
β-Carotenos	Zanahoria, mango, papaya	Provitamina A, prevención cáncer, refuerzo inmunológico
Licopenos	Tomate y sandía	Previene cáncer próstata, refuerzo inmunológico
Luteína, zeaxantina	Espinacas, hojas de col, maíz amarillo	Prevención enfermedad macular, cataratas. Retrasa síntomas rinitis
Vitamínicos		
Vitamina A	Leche, queso, yema de huevo, nueces, almendras, hígado.	Prevención ceguera nocturna y permanente, cáncer, enfermedades cardiovasculares. Refuerzo inmunológico. Mantiene salud epitelios
Vitamina C	Cítricos, kiwi, piña, brócoli	Poder antiviral. Mejora salud cerebral y cardiovascular
Vitamina E	Nueces, cacahuets, almendras, aceite de oliva	Previene ataques corazón, hipocolesterolemia y embolia. Promueve desarrollo cerebral en fetos y niños.

Adaptado de Díaz, Duarte de Prato & Sánchez. (s.f.).

1.4.2 Fibra dietética

La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos y lignina de origen vegetal. Se divide en soluble e insoluble. La fibra soluble retarda el vaciamiento gástrico facilitando el retraso de la absorción de glucosa en el intestino y favorece el tránsito intestinal. Se encuentra en la avena, algas, frutas y vegetales. La fibra insoluble estimula la masticación, salivación y secreción de jugos digestivos facilitando la digestión, presente en granos integrales, arroz, salvado de trigo, maíz, frutas y hortalizas (González, 2016). En general, son de difícil degradación debido a que son resistentes a la hidrólisis por los enzimas digestivos del ser humano. Sus funciones principales son: efecto laxante y disminución en los niveles de colesterol y de glucosa en la sangre (Álvarez & González, 2006). La clasificación global de fibra dietética propuesta se observa en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Clasificación global de la fibra dietética

Tipo de fibra dietética	Información	Ejemplos
Polisacáridos no almidón	Contienen al menos veinte residuos de monosacáridos. Llegan al colon al ser digeridos y absorbidos en el intestino.	Celulosa, β -glucanos, hemicelulosa, pectinas, gomas y mucílagos
Oligosacáridos resistentes	Tienen de tres a diez moléculas de monosacáridos.	Fructooligosacáridos (FOS; levanos e inulina), galactooligosacáridos (GOS), Xigooligosacáridos (XOS), Isomaltosoligosacáridos (IMOS)
Ligninas	Dan rigidez a la pared celular. No se digieren ni se absorbe, se une a los ácidos biliares y colesterol.	Presentes en verduras, hortalizas y frutas.
Sustancias asociadas a polisacáridos no almidón	Se encuentran en la parte externa de los vegetales, junto con las ceras, como cubierta hidrófoba	Suberina y cutina.
Almidones resistentes	Son la suma del almidón y de sus productos de degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de los individuos sanos	Se divide en cuatro tipos: atrapado (granos de cereales y legumbres), cristalizado (papas y plátano verde) retrogradado (pan, papas cocidas) y modificado (alimentos procesados)
Hidratos de carbono sintéticos	Sintetizados artificialmente pero que tienen características de fibra dietética.	Polidextrosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroximetilpropilcelulosa y otros derivados de la celulosa.
Fibras de origen animal	Sustancias análogos a los hidratos de carbono	Quitina y quitosán (esqueleto de los crustáceos y de la membrana celular de hongos), colágeno y condroitina.

Adaptado de Álvarez & González (2006).

1.4.3 Ácidos grasos y fitoesteroles

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA) son componentes que participan en diversos procesos fisiológicos, tienen una importante función estructural en los fosfolípidos de las membranas celulares y son sustratos para la síntesis de diversos mediadores fisiológicos. Se dividen en dos grupos principales: los ácidos grasos omega-3 (ω -3) y omega-6 (ω -6), los cuales son ácidos grasos esenciales (AGE) para el ser humano (Valenzuela *et al.*, 2011) (Tabla 5 y 6).

Tabla 5. Ácidos grasos omega-3 (PUFA n-3) importantes a nivel nutricional

Nombre común	Fuentes principales
Ácido α -linolénico	Aceites de lino, perilla, canola y soja
Ácido estearidónico	Aceites de pescado, aceite de soja modificado genéticamente, aceite de semilla de grosella negra y aceite de cáñamo
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	Pescado, especialmente el azul (salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa)
Ácido docosapentaenoico (DPA)	Pescado, especialmente el azul (salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa)
Ácido docosahexaenoico (DHA)	Pescado, especialmente el azul (salmón, arenque, anchoa, eperlano y caballa)

Fuente: FAO. (2012).

Tabla 6. Ácidos grasos omega-6 (PUFA n-6) importantes a nivel nutricional

Nombre común	Fuentes principales
Ácido linoleico	Aceites vegetales
Ácido γ -linolénico	Aceites de semilla de onagra, borraja y grosella negra
Ácido araquidónico	Grasas animales, hígado, lípidos del huevo, pescado
Ácido docosatetraenoico	Componente en cantidad mínima de tejidos animales
Ácido docosapentaenoico (DPA)	Componente en cantidad mínima de tejidos animales

Fuente: FAO. (2012).

Por otra parte, desde 1950 y 1960 se conocen las propiedades reductoras de colesterol dadas por el consumo de semillas oleaginosas (cereales, legumbres, frutos secos), ya que contienen compuestos fitoquímicos de tipo esteroide, los esteroides vegetales (fitoesteroides). (Thompson & Grundy, 2005). Los más abundantes son el sitosterol y campesterol, y en menor

cantidad los estanoles. Su estructura es casi idéntica al colesterol, sin embargo, los fitoesteroles se metabolizan de una forma distinta, ya que se absorben en un 5% y se excretan rápidamente por la bilis (Plat & Mensink, 2005). Se encuentran en casi todos los tallos, frutos y hojas vegetales. Sus principales fuentes son los aceites vegetales, semillas oleaginosas, cereales, legumbres y frutos secos (Muñoz, Alvarado & Encina, 2011).

1.5. Hongos comestibles y medicinales como alimento nutracéutico

Los hongos son un grupo de organismos que incluye especies con carpóforos grandes y visibles (macromicetos). Los macromicetos más conocidos son las “setas”, tienen sombrero y tallo, su hábitat natural son la campiña y los bosques. Pueden ser en su mayoría no comestibles, comestibles, venenosos y en un mínimo porcentaje letales (Boa, 2005). Por sus atributos sensoriales y nutricionales los hongos son muy apreciados como parte de la dieta en muchas culturas. A lo largo de la historia se han estudiado los beneficios del consumo de hongos y se han descrito diversas propiedades nutracéuticas tales como las anticancerígenas y antitumorales, hipocolesterolémicas, antivirales, antibacterianas e inmunomoduladoras, entre otras (Mattila *et al.*, 2000). A nivel mundial se ha intensificado el cultivo y consumo de hongos con propiedades nutracéuticas, así como el estudio de sus compuestos bioactivos. Los metabolitos secundarios de los macromicetos son aislados del carpóforo (cuerpo fructífero del hongo) para la obtención de compuestos bioactivos y la producción de medicamentos comerciales (Smith *et al.*, 2002).

En las últimas dos décadas se ha incrementado la utilización de los hongos como nutracéuticos y se ha investigado y autorizado completamente muchas especies comestibles para uso medicinal. Actualmente se conocen cerca de 2,000 especies de hongos comestibles, sin embargo, muy pocos se cultivan y comercializan. Las principales especies de hongos comestibles con propiedades nutracéuticas son: *Lentinula edodes* (Shiitake), *Grifola frondosa* (Maitaki), *Flammulina velutipes* (Enoki) y *Pleurotus spp.* (Ostra); especies de hongos medicinales y nutracéuticas como *Ganoderma lucidum* (Reishi) y *Trametes versicolor* no son directamente comestibles por su sabor amargo y textura gruesa. Por ejemplo, estudios con el macromiceto *G. lucidum* han demostrado efecto hipolipemiante, hipoglicémica e inmunoprotectora debido a su alto valor nutricional y acción farmacológica de los metabolitos secundarios (Paredes & Valverde, 2006; Salgado *et al.*, 2016).

1.6. Hongo medicinal *Ganoderma lucidum*

1.6.1 Historia de *Ganoderma lucidum*

Ganoderma se deriva de la palabra griega “*Ganos*” que significa brillo o resplandor y “*Derma*” que significa piel. Es un hongo basidiomiceto satinado al exterior, de gran tamaño, textura leñosa (Quiriz, 2012). En China es conocido con el nombre de *Lingzhi*, y *Reishi* en Japón, se caracteriza por ser una seta herbaria altamente consumida por sus propiedades medicinales más que por su valor nutritivo. Se encuentra en la naturaleza en árboles de ciruelo, crece en una amplia variedad de árboles muertos o moribundos, por ejemplo, árboles de hoja caduca, especialmente encino, roble, arce, olmo, sauce y magnolia. Su crecimiento se ubica principalmente en Europa, Asia y América del Norte y del Sur (Solomon, 2005).

Años atrás, emperadores y reyes de Asia consumían *Ganoderma* a pesar de su producción limitada y poca accesibilidad para la mayoría de población. A partir de 1971 en China y Japón se logró cultivar por el hombre y comenzó a extenderse en países como Taiwán y Malasia para su consumo en infusión, polvo de esporas, extractos y concentrados con la finalidad de mejorar la salud, aumentar la longevidad y combatir enfermedades como la hepatitis, bronquitis crónica, gastritis, crecimientos tumorales y trastornos inmunológicos (Ríos, 2008).

1.6.2 Características generales del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*

Investigaciones previas indican que el hongo medicinal *G. lucidum* tiene componentes antihipertensivos, antineoplásicos, hipolipidémicos y antiplaquetaria (Ortiz & Rivasplata, 2015). Entre los compuestos bioactivos presentes en esta especie se encuentran los ergosteroles, los triterpenoides (alcoholes y ácidos ganodéricos) y los polisacáridos (β -D-glucanos). Es conocido como adaptógeno debido a que incrementa la resistencia del cuerpo y lo fortalece para sobreponerse ante la enfermedad de manera rápida (Ortiz & Rivasplata, 2015).

1.6.3 Características biológicas del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*

Las especies de *Ganoderma* pertenecen al reino Fungi, división Basidiomycota, clase Homobasidiomycetes, orden Aphylloporales, familia Ganodermataceae y género *Ganoderma* (Wasser & Weis, 1999). Contienen esporas, y una apariencia leñosa o coriácea. Se desarrollan bajo condiciones elevadas de calor y humedad, se encuentran en regiones tropicales y

subtropicales. Crecen sobre madera en descomposición absorbiendo los nutrientes a través de hifas (Moncalvo y Ryvarden, 1998). El ciclo de vida de *G. lucidum* inicia cuando una basidiospora germina para formar una colonia de ramificación de hifas filamentosas, este micelio joven se compone por un núcleo haploide formado por reproducción mitótica. Posteriormente, se desarrolla el micelio homocarión (con núcleos genéticamente idénticos) que se expande a través del suelo y la madera para combinarse con un homocarión sexualmente compatible y crear un micelio heterocariótico (dicarión). El surgimiento de un hongo a partir de la colonia comienza con el desarrollo de un nudo de hifas. Los basidios se forman en los extremos de las hifas cuyas puntas dejan de crecer en la superficie de las laminillas del cuerpo fructífero. Los basidios dicarióticos se fusionan y se someten a la meiosis para producir cuatro núcleos haploides, cada uno de los cuales se desplazan a una de las cuatro basidiosporas formadas a partir del basidio (Castillo, 2016). Cada basidio genera, basidiosporas que al liberarse y una vez halladas las condiciones apropiadas germinan para dar origen a un nuevo micelio (Vásquez, 2013) (**Figura 3**).

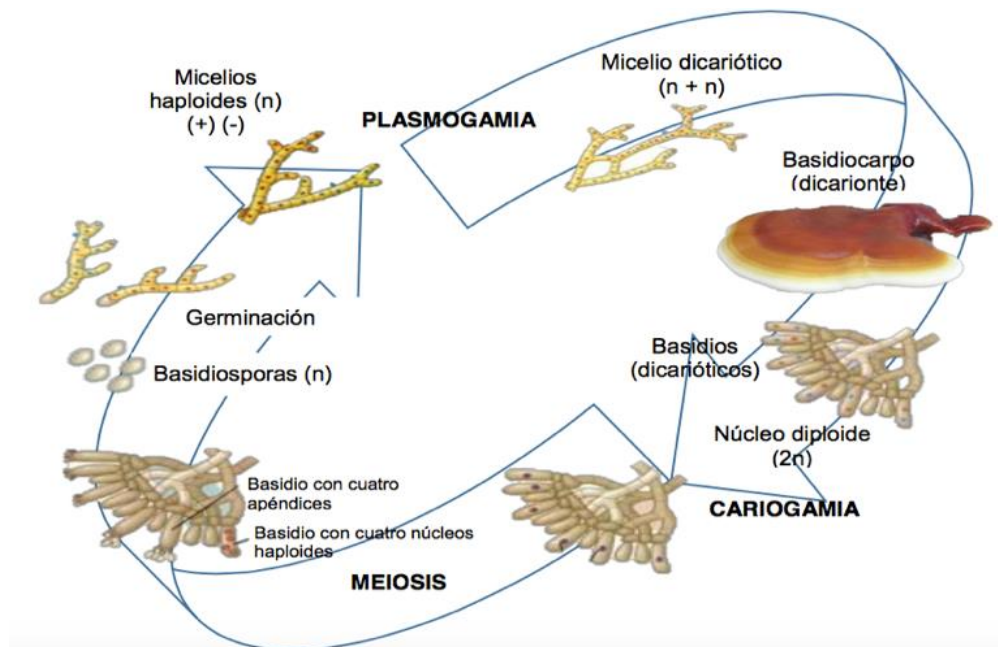


Figura 3. Ciclo de vida de *Ganoderma lucidum*. (Castillo, 2016).

1.6.4 Morfología del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*

Los Ganodermataceae son basidiomicetos que causan la pudrición blanca de maderas duras como el roble y el arce, por la descomposición de la lignina, así como celulosa y polisacáridos relacionados. Los basidiocarpos producidos de forma natural por *G. lucidum* muestran varias características morfológicas; sésiles, estipitado, imbricados y no imbricados. La variación morfológica parece ser afectada por las condiciones ambientales durante el desarrollo del basidiocarpo (Castillo, 2016).

El cuerpo de *G. lucidum* consta de tres partes principales, un gorro en forma de riñón, el eje y esporas (Figura 4). El tamaño del gorro puede ser superior a 10 cm de diámetro, tiene un color caoba que perdura al madurar, lo único que varía es el color del borde, que al principio es amarillento, y en los ejemplares adultos es blanco. Es de superficie lisa y un poco ondulada, con un aspecto brillante (Ramacharaka, s.f.). Generalmente el sistema de las hifas es trimítico, ocasionalmente dimítico, las hifas generativas son hialinas, de paredes delgadas y ramificadas. Los basidios y basidiosporas son considerados como los más importantes para la identificación de especies. Los basidios alcanzan un tamaño relativamente grande y van desde ensanchados a piriformes. Las basidiosporas son ovoides o elipsoide-ovoide, truncadas en el ápice (Seo & Kirk, 2000).

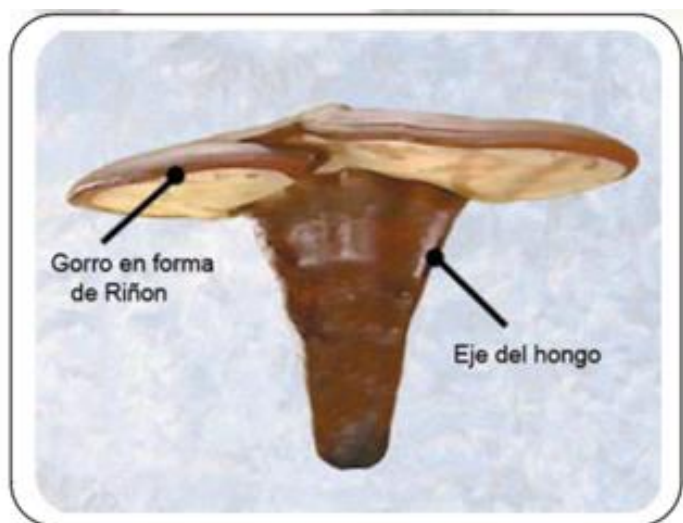


Figura 4. Morfología de *Ganoderma lucidum*. (Ramacharaka s.f.)

1.6.5 Clasificación de *Ganoderma lucidum*

Se estima que hay aproximadamente 1.5 millones de especies de hongos alrededor del mundo de los cuales se describen aproximadamente 82,000. La mayoría de las especies conocidas pertenecen a macrofungi de los cuales, alrededor de 5,000 son comestibles y de estos 2,000 son seguros para el consumo humano (Deepalakshmi *et al.*, 2013). Existen más de 2000 especies conocidas de *G. lucidum*, pero solo seis tipos han sido estudiados a detalle: rojo, negro, azul, blanco, amarillo y púrpura (Ramacharaka, s.f.) (**Tabla 7**).

Tabla 7. Los seis tipos de *Ganoderma lucidum*

Color	Sabor	Nombre Japonés	Atribución en la salud
Azul	Agrio	Aoshiha	Mejora la vista y la función hepática; calma los nervios
Rojo	Amargo	Akashiba	Ayuda a los órganos internos; mejora la memoria y la vitalidad
Amarillo	Dulce	Kishiba	Fortalece la función del bazo
Blanco	Picante	Shiroshiba	y mejora la función pulmonar
Negro	Salado	Kuroshiba	Protege los riñones
Morado	Dulce	Murasakishiba	Mejora la función del oído, articulaciones, músculos; ayuda a la piel

Fuente: Solomon P. (2005).

Alrededor del mundo se han descrito más de 250 especies de *Ganoderma*. Hoy en día, existen diversas publicaciones relacionadas con este hongo y actualmente se comercializa a gran escala. Los aislados, según la literatura referente a prácticas terapéuticas, usualmente hace referencia a la especie *G. lucidum* (Wang *et al.*, 2012). El tipo genérico de *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. fue originalmente reportado de Peckham, Inglaterra, Reino Unido (Cao *et al.*, 2012). Se distribuye desde el Amazonas a regiones del sur de Norteamérica y gran parte de Asia. Moncalvo y Ryvardeen (1998), señalaron que su distribución es en regiones tropicales y subtropicales. Estudios realizados en México entre el 2002 y 2012 sobre la distribución de especies de *Ganoderma* y los substratos o tipos de vegetación en que se han colectado, se presentan en la siguiente **Tabla 8**.

Tabla 8. Distribución en México de especies de *Ganoderma*

Estado/Entidad	Especies	Sustrato	Referencias
Colima, Guanajuato y Jalisco	<i>G. lucidum</i> y <i>G. curtisii</i>	En troncos de encino (<i>Quercus</i>)	Alvarado-Rosales <i>et al.</i> (2007)
Sonora	<i>G. adspersum</i> , <i>G. curtisii</i> y <i>G. lucidum</i>	Bosques de pino-encino, diversos bosques, vegetación tipo matorral	Montaño <i>et al.</i> (2006)
Veracruz	<i>G. sessile</i> (= <i>G. resinaceum</i>)	No especificado	Suarez-Medellín <i>et al.</i> (2012)
Aguascalientes	<i>G. lucidum</i>	En árboles jóvenes y maduros, vivos o muertos de <i>Quercus</i> potosina	Moreno-Rico <i>et al.</i> (2010)
Hidalgo	<i>G. applanatum</i> , <i>G. brownii</i> , <i>G. curtsii</i> , <i>G. lobatum</i> , <i>G. lucidum</i>	Bosque mesófilo de montaña y en bosque de Abies	Romero-Bautista <i>et al.</i> (2010)
Durango	<i>G. lucidum</i> , <i>G. applanatum</i> , <i>G. lobatum</i> , <i>G. curtisii</i> , <i>G. tsugae</i>	Bosques de pino y pino-encino	Díaz <i>et al.</i> (2005)
Chihuahua	<i>G. lucidu</i> , <i>G. lobatum</i>	Bosques de pino, pino-encino, bosque de tascate, selva baja caducifolia	Díaz-Moreno <i>et al.</i> (2009)
Querétaro y parte de Guanajuato	<i>G. lucidu</i> , <i>G. lobatum</i> , <i>G. applanatum</i>	En bosque de <i>Quercus sp.</i>	Valenzuela <i>et al.</i> (2002); Landeros <i>et al.</i> (2006)
Jalisco, Hidalgo, Morelos	<i>G. curtisii</i>	Bosques de pino- encino	Torres-Torres & Guzmán-Dávalos (2005)
Puebla, México, Morelos	<i>G. applanatum</i>	En <i>Quercus sp.</i> , y <i>Pinus sp.</i>	Tello (2010)
Guerrero, Morelos	<i>G. curtisii</i>	En <i>Quercus sp.</i> y madera en descomposición	
Morelos	<i>G. subamboinese</i> , <i>G. resinaseum</i> , <i>G. sessil</i> , <i>G.lobatum</i> , <i>G. colossus</i>	En <i>Quercus sp.</i> , <i>Casuarina sp.</i> , <i>Sphathodea campanulata</i>	Tello (2010)
Puebla, Jalisco, Morelos	<i>G. lucidum</i>	En <i>Quercus sp.</i>	Tello (2010)

Fuente: González B. (2015).

1.6.6 Compuestos bioactivos de *Ganoderma lucidum* y sus propiedades funcionales y nutraceuticas

G. lucidum contiene principalmente proteínas, grasas, carbohidratos y fibra (Solomon, 2005). El cuerpo fructífero, los micelios y las esporas de *G. lucidum* contienen aproximadamente 400 compuestos bioactivos diferentes, que incluyen triterpenoides, polisacáridos, esteroides, esteroides, ácidos grasos, proteínas y oligoelementos (**Tabla 9**) (Ríos, 2008). En *G. lucidum*, los triterpenos suprimen el crecimiento y el comportamiento invasivo de las células cancerosas, mientras que los polisacáridos estimulan el sistema inmune, incrementan la producción de citocinas y la actividad anticancerosa de las células inmunes (Muller *et al.*, 2006).

Tabla 9. Principales compuestos en *Ganoderma lucidum*

Polisacáridos		
Heteroglucano PL-1	Heteroglucano PL-2	Homoglucano PL-3
Ganoderano A	Ganoderano B	Ganoderano C
Lanostanoides		
Ácido ganodérico alfa	Ácido ganodérico A	Ácido ganodérico B
Ácido ganodérico C	Ácido ganodérico C1	Ácido ganodérico C6
Ácido ganodérico Z	Aldehído ganodérico A	Ácido ganolucídico A
Ácido lucidénico A	Ácido lucidénico D	Ácido ganodérmico R
Ácido ganodérmico S	Ácido ganodérico D	Ganoderiol A
Ganoderiol B	Ganoderiol E	Ganoderiol F
Lanosterol	Lucidona A	Lucidumol B
Cerevisterol	Ganodermenonol	Ganodermadiol
Ganodermatriol	Ganodermanondiol	Ganodermanotriol
Esteroides		
Ergosterol	Ergosterol peróxido	Palmitato de ergosta-7,22-dien-3 β -ilo
Linoleato de ergosta-7,22-dien-3 β -ilo	Pentadecanoato de ergosta-7,22-dien-3 β -ilo	3 β -5 α -dihidroxi-6 β -metoxiergosta-7,22-dieno
Ergosta-7,22-dien-3 β -ol	Ergosta-4,7,22-trien-3,6-diona	24-Metilcolest-7-en-3 β -ol

Adaptado y modificado de Ríos (2008).

Se han realizado diversos estudios de *G. lucidum* que muestran los efectos farmacológicos, inmunomoduladores, antiateroscleróticos, antiinflamatorios, analgésicos, quimiopreventivos, antitumorales, radioprotectores, antibacterianos, antivirales, hipolipidémicos, antifibróticos, y hepatoprotectores en el organismo (Wasser & Weis, 1997; Chang & Buswell, 1999; Jong & Birminhgham, 1992) (**Tabla 10**). Además, *G. lucidum* se considera un coadyuvante alternativo en el tratamiento de la leucemia, el carcinoma, la hepatitis y la diabetes (Jong & Birminhgham, 1992; Hobbs, 1995; McKenna, Jones & Hughes, 2002).

Tabla 10. Compuestos bioactivos de *G. lucidum* y sus efectos a la salud

Compuestos bioactivos	Efecto	Referencia
Adenosina	Antiagregante plaquetario	Kawagishi <i>et al.</i> , (1993)
Lecitinas	Mitogénesis	Ngai & Ng. (2004)
	Antihipertensivo	Kim <i>et al.</i> (2000), Oh <i>et al.</i> , (2000) Ukai <i>et al.</i> , (1983)
	Antiinflamatorio	Zhang <i>et al.</i> , (2002)
	Hepatoprotector	Bastami <i>et al.</i> , 2007; Zhang & Lin, 2004;
	Hipoglucemiante	Zhang <i>et al.</i> , 2003
Polisacáridos	Inmunomodulador	Zhang & Lin (2004); Gao <i>et al.</i> , (2000); Li <i>et al.</i> , (2000); Li & Zhang (2000); Ooi, Ooi & Fung, (2002); Li <i>et al.</i> , (2007); Paterson, (2006); Yuen & Gohel, (2008); Zhang <i>et al.</i> , (2007); Shao <i>et al.</i> , (2004)
	Anti-tumoral	
Proteína (LZ-8)	Inmunomodulador	Van der Hem <i>et al.</i> , (1995)
	Inmunosupresor	Van der Hem <i>et al.</i> , (1995)
	Antimicrobiano	Smania <i>et al.</i> , (1999), Gao <i>et al.</i> , (2003a).
	Anti-inflamatorio	Min <i>et al.</i> , (2001) Zhu <i>et al.</i> , (1999), Xiao-Ping <i>et al.</i> , (2009), Jia <i>et al.</i> , (2009); Xu <i>et al.</i> , (2009)
	Antioxidante	
Terpenoides	Citotóxico	Gao <i>et al.</i> , (2002b), González <i>et al.</i> , (2002), Kimura <i>et al.</i> , (2002), Su <i>et al.</i> , (2000), Wu <i>et al.</i> , (2001)
	Hepatoprotector	
	Hipolipemiante	Chen & Yu, (1993)
	Hipotensivo	Shiao (1992), Hajjaj <i>et al.</i> , (2005); Gao <i>et al.</i> , (2004b); Meneses <i>et al.</i> , (2016)

Adaptado y modificado de Petlcalco, (2016).

1.6.6.1. Compuestos terpenoides

Los triterpenos de *G. lucidum* son derivados lanostanoides con un alto grado de oxidación. Se han identificado al menos 140 triterpenos diferentes en *G. lucidum*. La mayoría son de sabor amargo y se producen en gran medida como el ácido ganodérico. Estudios preliminares indican que las esporas contienen altas cantidades de ácidos ganodéricos que otras partes del hongo (**Figura 5**). La composición triterpénica del cuerpo del hongo varía según la zona en la que se cultiva (Solomon, 2005).

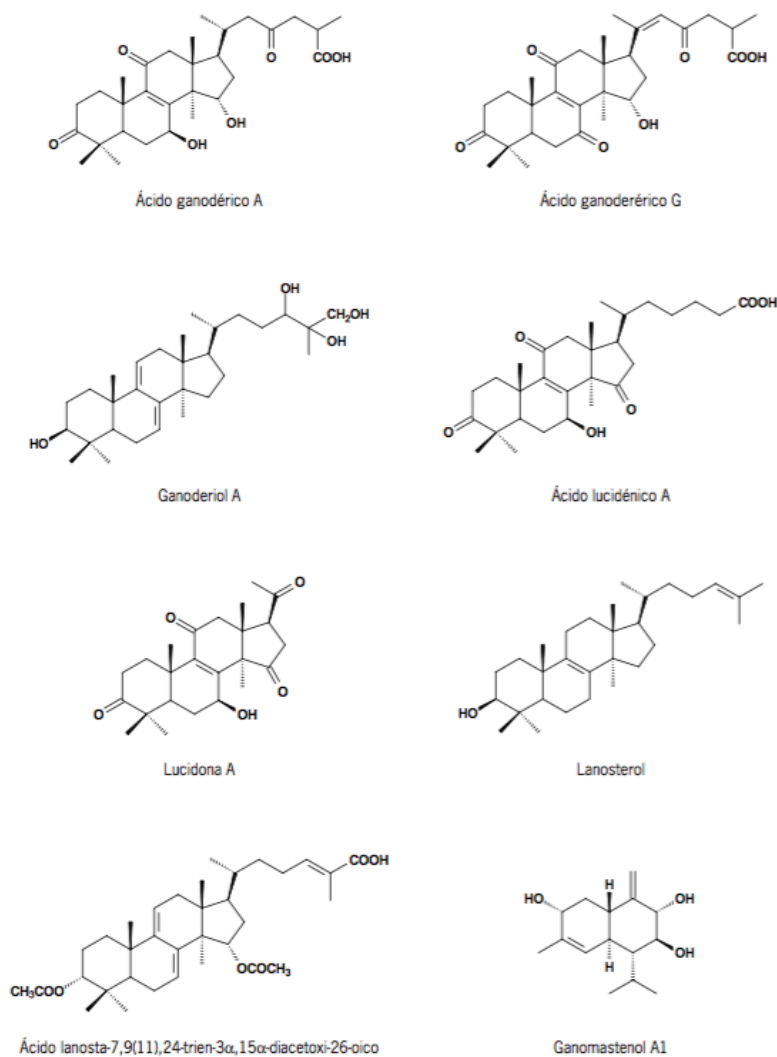


Figura 5. Ejemplos de diferentes tipos de terpenoides aislados de *Ganoderma lucidum*. (Ríos, 2008).

Los ácidos ganodéricos A, B, C y D, ácido lucidénico B y ganodermanotriol tienen efectos antioxidantes en el organismo debido a la oxidación inducida por pirogalol en membranas de eritrocitos y peroxidación lipídica en microsoma hepático inducida por Fe(II)-ascorbato (Paterson, 2006). Además, los ácidos ganodéricos de *G. lucidum* inhiben la aldosa reductasa y las enzimas α -glicosidasas. La aldosa reductasa convierte la glucosa en sorbitol, paso clave en la vía del Polioli; al incrementarse genera cambios severos que incluye la disminución en los niveles de NADPH, glutatión y miositol; cada uno con un papel importante en el desarrollo de la microangiopatía diabética. (Fatmawati *et al.*, 2010a, 2010b, 2011a, 2013). La acumulación de sorbitol en pacientes diabéticos puede causar complicaciones como neuropatía, cataratas y retinopatía (Bhatnagar & Srivastava 1992; Schemmel *et al.*, 2010). La enzima α -glicosidasa convierte los disacáridos y oligosacáridos en glucosa en el epitelio del intestino delgado y, por lo tanto, la inhibición de la α -glicosidasa realizada por los ácidos ganodéricos conduce a aliviar la hiperglucemia (Fatmawati *et al.*, 2011b).

Estudios han demostrado que el ácido ganodérico B tiene efectos hepatoprotectores; el ácido ganosporérico disminuye los niveles de glutamato piruvato transaminasa (GPT/ALT) en ratones con lesión hepática por CCl₄ y GaNI y exhibe efectos hepatoprotectores (Chen & Yu, 1993). Derivados triterpénicos oxigenados de *G. lucidum* presentan propiedades hipocolesterolemiantes (Shiao *et al.*, 1994). Se ha descubierto que los ganoderoles A y B inhiben la vía de síntesis de colesterol (Hajjaj *et al.*, 2005). Los triterpenos con un grupo funcional en C-15 (hidroxilo o acetoxilo) y un carbonilo en C-26 inhiben la síntesis de colesterol por medio de la inhibición de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), y los derivados con un 15 α -hidroxilo inhiben la 14 α -metil-demetilasa, enzima clave en la síntesis post-mevalonato del colesterol (Shiao *et al.*, 1994). Por tanto, los triterpenos, polisacáridos, proteoglicanos y proteínas de *G. lucidum*, son responsables de los efectos hipoglucémicos, reducen los niveles de glucosa en hígado y plasma para prevenir la hiperglucemia (Ma, Hsieh & Chen, 2015).

1.6.6.2. Polisacáridos

Los polisacáridos de *G. lucidum* representan un importante grupo fitoquímico desde el punto de vista farmacológico. Se han aislado más de 100 tipos de polisacáridos del cuerpo fructífero, esporas y micelios de *G. lucidum* (Ríos, 2008). Los componentes más relevantes son los β -D-glucanos consisten en un esqueleto lineal, derivados de β -D-glucopiranososa (1-3) con 1 a 15 unidades de monómeros de β -D-glucopiranososa (1-6) como cadenas laterales (**Figura 6**). Los β -D-glucanos solubles en agua, existen con cadenas de heteropolisacáridos de xilosa, manosa, galactosa, ácido urónico y complejos β -D-glucanos-proteína que están presentes en un 10-50% en *G. lucidum* seco (Gao *et al.*, 2002a; Chen *et al.*, 1998).

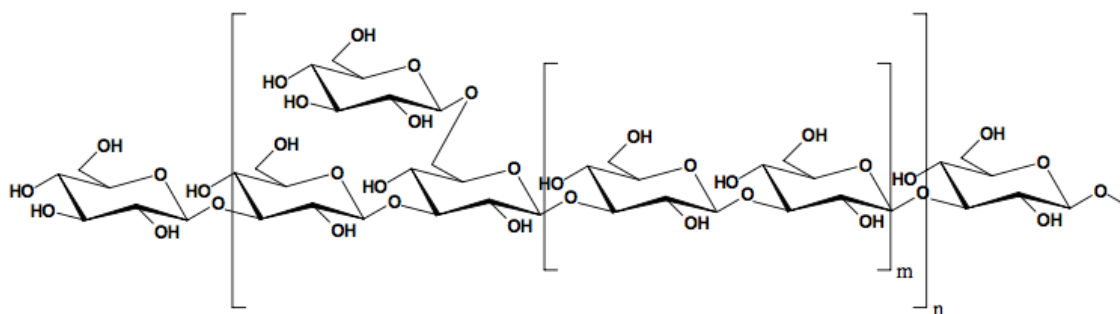


Figura 6. Ejemplo de polisacárido aislado de *Ganoderma lucidum*. (Ríos-Cañavate, 2008).

Existe evidencia de la eficacia de los β -glucanos para reducir las concentraciones de glucosa en sangre y la disminución de la hiperlipidemia y la hipertensión (Kim *et al.*, 2005, Goff *et al.*, 2007). Un mecanismo del efecto de los β -glucanos para reducir la glucosa en la sangre es que produce un retraso en el vaciado del estómago para que la glucosa dietética aumente su absorción de manera gradual. Por lo que, los β -glucanos pueden disminuir el apetito y reducir la ingesta de alimentos (Kiho *et al.*, 1995).

Otro mecanismo posible para la disminución de los niveles de glucosa en sangre dado por los β -glucanos es por medio de la activación de la vía PI3K/Akt relacionada con la regulación de la insulina que se mantiene en equilibrio por fosforilación y desfosforilación (**Figura 7**). Las fosfoinositol 3-quinasas (PI3K) autofosforilan y fosforilan el sustrato del receptor de insulina (IRS), posteriormente se fosforila el fosfatidil inositol 3,4 difosfato (PIP2) convirtiéndolo en el segundo mensajero fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato (PIP3), el cual

conduce a la activación de la proteína quinasa B (Akt), clave en la transducción de señal y efectos de la insulina sobre la translocación de GLUT4 y la captación de glucosa (Cheatham *et al.*, 1994). Por tanto, la reducción de la actividad de PI3K/Akt desempeña un papel clave en la patogénesis de la diabetes. Los β -glucanos aumentan la activación de PI3K/Akt a través de varios receptores como dectina-1, receptor de complemento 3, lactosilceramida y los receptores Scavengers, cada uno induce a distintas rutas de señalización (Hsu, Lee & Lin, 2002; Chen & Seviour 2007).

Además, los β -glucanos son capaces de reducir la hipertensión. Un estudio realizado en ratas genéticamente modificadas con hipertensión espontánea, alimentadas con una dieta que contenía 5% de Shiitake (*Lentinus edodes*) o Maitake (*Grifola frondosa*) produjo una disminución de la presión arterial sistémica media (Kabir *et al.*, 1987, 1988; Kabir & Kimura, 1989). Por otra parte, el consumo de basidiocarpos enteros de Maitake causó una disminución de la presión arterial en un modelo de ratas obesas con diabetes (Talpur *et al.*, 2002a, 2002b, 2003).

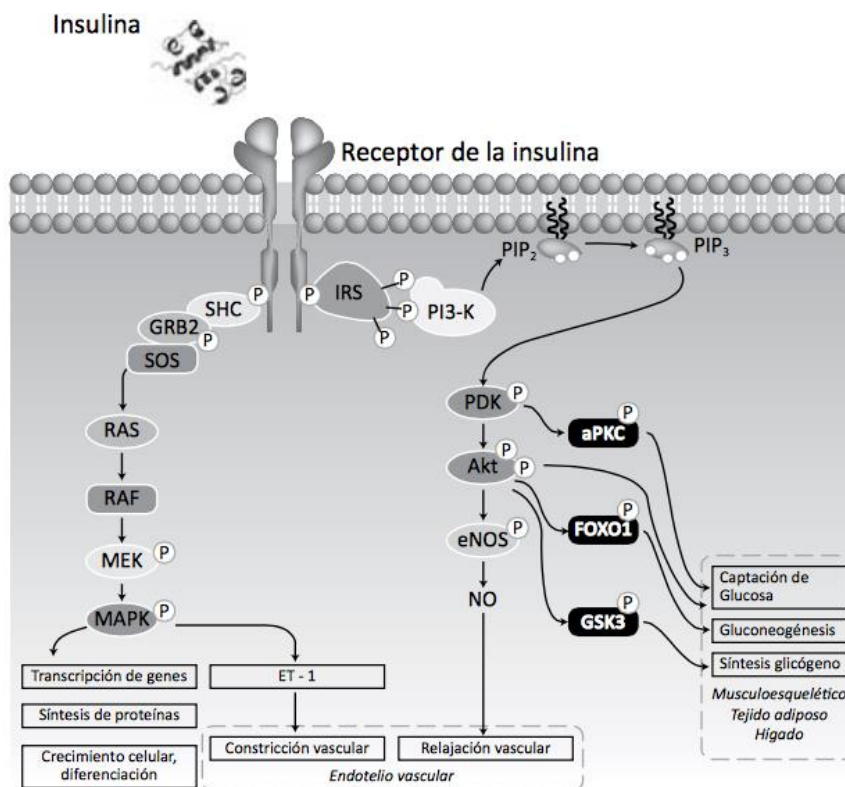


Figura 7. Vías de traducción intracelular de la insulina. (Fortich. s.f).

Los polisacáridos de *G. lucidum* tienen un bajo peso molecular y pueden causar efectos hipoglucémicos, proteger las células pancreáticas de la muerte celular y promover la regeneración celular mediante la regulación de la proteína Bcl-2(linfoma de células B), la cual constituye un punto clave en la apoptosis celular. Estos polisacáridos reducen los niveles séricos de glucosa y niveles anormales de insulina sérica en ratones con diabetes tipo II inducidos con estreptozotocina(STZ) con una dieta alta en grasa (Li *et al.*, 2011). Además, los polisacáridos permiten disminuir el estrés oxidativo de las mitocondrias, inhibir la actividad y la nitración de manganeso superóxido dismutasa (Mn-SOD), suprimir la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx), disminuir la expresión de la enzima redox p66Shc y fosforilación (Ma *et al.*, 2015).

Estudios previos han demostrado que los polisacáridos de *G. lucidum* (GI-PS) exhiben un potencial antihiper glucémico en ratas; los resultados sugieren que los GI-PS pueden disminuir significativamente la glucosa plasmática en ayunas, colesterol total y triglicéridos en ratas diabéticas inducidas por streptozocina (STZ). Estos efectos se deben a sus actividades antioxidantes y la capacidad de inhibir la producción de óxido de nitrógeno ocasionada por STZ (Zheng *et al.*, 2012). Las propiedades antiinflamatorias de los polisacáridos de *G. lucidum* podrían ser útiles en la prevención de enfermedades cardiovasculares y respuestas inflamatorias al disminuir la expresión de IL-1 β (Liang *et al.*, 2014). En pacientes con enfermedades coronarias los polisacáridos de *G. lucidum* reducen significativamente el porcentaje de electrocardiograma (ECG) anormal, la presión arterial y el nivel de colesterol sérico, el cual se mantiene constante (Gao *et al.*, 2004b). También, disminuyen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y tienen efecto antioxidante (Paterson, 2006). Por otro lado, debido a la baja solubilidad y viscosidad de β -glucanos se han propuesto como un mecanismo de acción en la disminución de la absorción de colesterol y triglicéridos en el intestino, así como una mayor excreción de ácidos biliares fecales y colesterol (Theuwissen & Mensink, 2008). *Ganoderma lucidum* puede afectar la síntesis de colesterol ya que interviene en la acción de HMG-CoA, o en la última etapa de lanosterol 14 α -metil-desmetilasa: citocromo P-450-desmetilasa (P-45014DM), catalizando la velocidad en la conversión de lanosterol-colesterol (Walker *et al.*, 1993; Frye & Leonard,1999).

Adicionalmente, un estudio realizado en hámsters y minicerdos demostró que *G. lucidum* tienen un potencial de reducción del colesterol en estos dos modelos animales. Probablemente, los componentes fibrosos y glucanos de *G. lucidum* son responsables de las alteraciones observadas en esteroides fecales neutros y ácidos biliares de ambas especies animales contribuyendo a la reducción del colesterol (Berger *et al.*, 2004). Un artículo de la revista *Lipids in Health and Disease* demostró que las esporas de *G. lucidum* (GLSP) podrían usarse como un ingrediente para atenuar la diabetes mellitus a través de actividades anti-hiperglucémicas y anti-hiperlipidémicas, debido a la actividad de la HMG-CoA asociada con el metabolismo de las lipoproteínas (Wang *et al.*, 2015).

1.6.6.3. Proteínas

Diferentes proteínas bioactivas se han aislado de *G. lucidum*. Una de ellas, es Ling Zhi-8, tiene propiedades inmunomoduladoras y anti-diabetes de tipo I (Kino *et al.*, 1989, 1990). Disminuye la concentración plasmática de glucosa, la infiltración de linfocitos y aumenta la detección de anticuerpos de insulina en células beta en ratones diabéticos no obesos, es responsable de la actividad inmunomoduladora para inhibir la diabetes mediante el ajuste de subconjuntos de células inmunes (Ma *et al.*, 2015). Otro péptido denominado GI-PP (*Ganoderma lucidum peptide*) posee propiedades antitumorales y antiangiogénicas, induce apoptosis e inhibe la proliferación celular (Cao & Lin, 2006). El ácido proteoglicano FYGL (Fudan-Yueyang-*G. lucidum*) extraído de *G. lucidum* puede inhibir in vitro la PTP1B (Proteína tirosina fosfatasa 1B) (Teng *et al.*, 2012). PTP1B ayuda en la regulación negativa de la señalización del receptor de insulina y disminuye la expresión de la subunidad β del receptor de insulina (Combs 2010; Feldhammer *et al.*, 2013). Tiene efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos dependientes de la dosis, aumenta los niveles de insulina en la sangre, disminuye la expresión de la proteína PTP1B en las células del músculo esquelético y en células de los adipocitos induce las expresiones de la proteína transportadora de glucosa 4 (GLUT4) en ratones diabéticos. Además, aumenta el uso de glucosa en las células musculares y reduce la producción de glucosa hepática en la sangre para disminuir los niveles de glucosa (Teng *et al.*, 2012).

1.6.6.4. Efecto antitumoral e inmunomodulador

Los polisacáridos (β -D-glucanos) aislados de *G. lucidum* son responsables del efecto antitumoral. Los β -D-glucanos se unen a superficies de leucocitos o proteínas específicas de suero que conducen a la activación de macrófagos, células T, células aniquilantes y otras células efectoras (Konopski *et al.*, 1994; Mueller *et al.*, 2000). Algunos triterpenoides como los ácidos ganodéricos T-Z aislados de *G. lucidum* presentan actividad citotóxica en células de hepatoma (Lin, Tome & Won, 1991). Los polisacáridos y triterpenoides son los principales contribuyentes al efecto anticancerígeno de *G. lucidum*, aunque constituyentes como las proteínas, también desarrollan este efecto (**Figura 8**) (Mizuno, 1995).

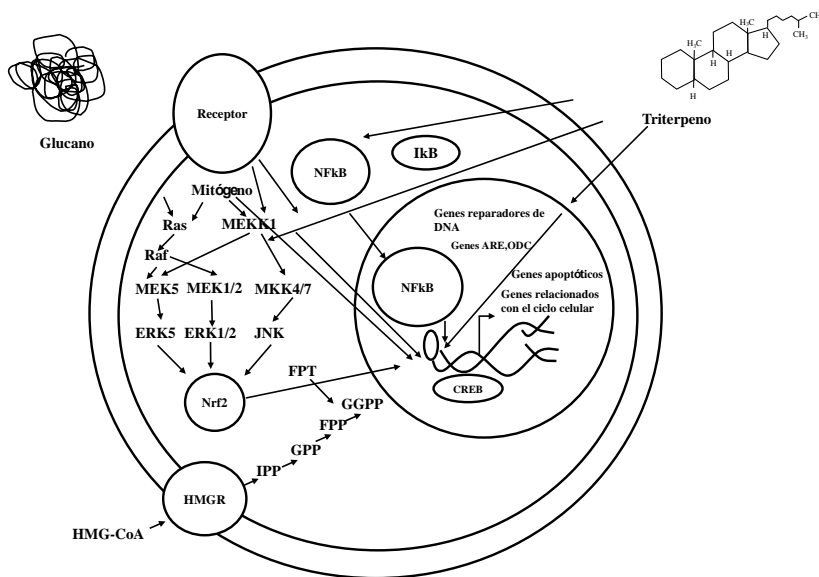


Figura 8. Posibles blancos moleculares de *G. lucidum*. Los constituyentes de *G. lucidum* (por ejemplo, β -D-glucano) modificaron Ras/Erk, c-myc, proteína CREB y mitógeno activado usando proteína quinasa, que pueden proporcionar una explicación del efecto preventivo y anticancerígeno de *G. lucidum*. Adaptado de Gao *et al.*, 2002a.

En países asiáticos, los compuestos bioactivos de *G. lucidum* se utilizan como un solo agente o en combinación con medicamentos herbarios o fármacos para aprovechar el efecto antitumoral e inmunomodulador (**Figura 9 y 10**)

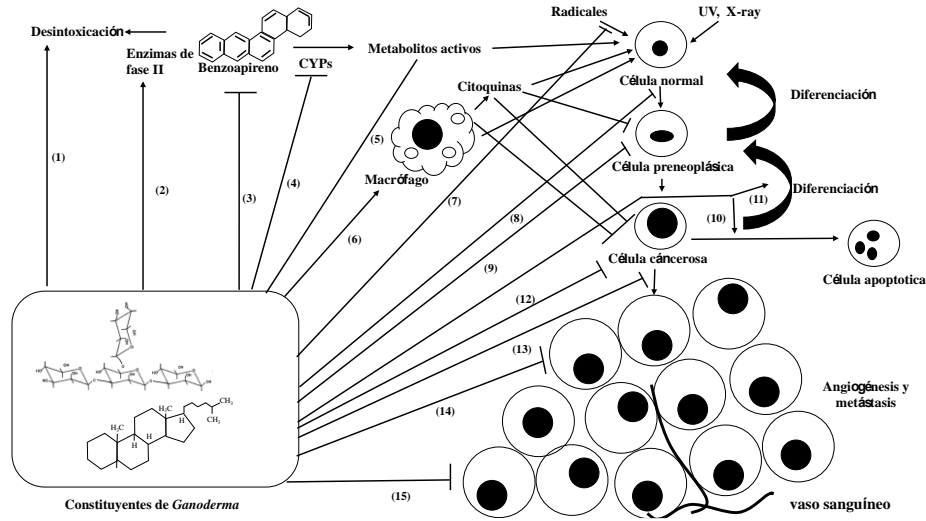


Figura 9. Los mecanismos para el efecto preventivo y antitumoral del tumor de *G. lucidum*. Los constituyentes activos de *G. lucidum* pueden operar a través de varios mecanismos incluyendo el aumento de la desintoxicación de los carcinógenos (línea 1), el aumento de la expresión y la actividad de las enzimas de la Fase II (línea 2), la inhibición de la exposición de los órganos carcinógenos por absorción reducida o aumento de la excreción (línea 4), disminución de la formación de metabolitos tóxicos y formación de aductos con macromoléculas (línea 5), aumento de la respuesta inmune del huésped (por ejemplo, activación de macrófagos y linfocitos T) (línea 6), efectos antioxidantes y de eliminación de radicales (línea 7), efecto antipromoción (línea 8), antiproliferación (línea 9), inducción de células tumorales (línea 10), inducción de diferenciación (línea 11), citotoxicidad directa, inducción de la detención del ciclo celular, antiproliferación y modulación (línea 12), antiprogresión e inhibición del crecimiento tumoral (línea 13), antimetástasis (línea 14) y antiangiogénesis (línea 15). Adaptado de Gao *et al.*, 2002a.

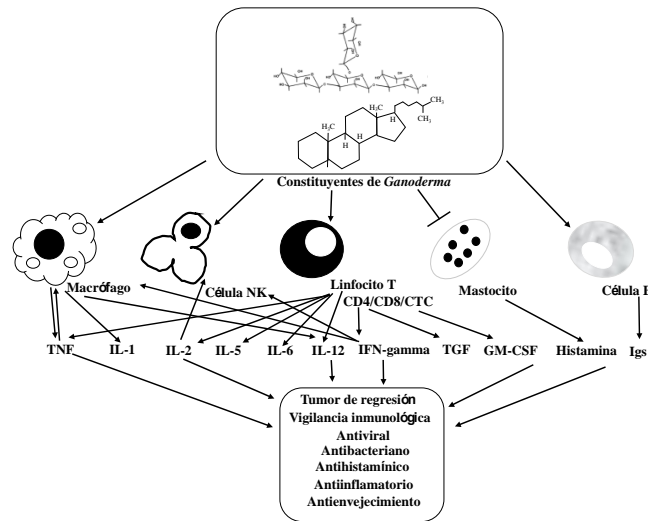


Figura 10. Los efectos inmunomoduladores de *G. lucidum*. Los principales efectos inmunomoduladores de las sustancias activas derivadas de *G. lucidum* incluyen la mitogenicidad y la activación de células efectoras inmunes tales como linfocitos T, macrófagos y células NK que conducen a la producción de citoquinas que incluyen ILs, TNF- α e IFNs. También se han descrito otros efectos, como la inhibición de los mastocitos y la activación de los linfocitos B. Adaptado de Zhou *et al.*, 2002a.

1.6.6.5. Actividad hepatoprotectora

Para el tratamiento de la hepatopatía crónica de diversas etiologías se ha utilizado *G. lucidum*. Estudios *in vitro* indican que los polisacáridos y triterpenoides de *G. lucidum* presentan actividades protectoras contra la lesión hepática inducida por productos químicos tóxicos (por ejemplo, CCl₄) y actividad antihepatitis B (Zhou *et al.*, 2002b; Gao *et al.*, 2003b). La Universidad Medica de China evaluó los efectos del extracto de *G. lucidum* (GLE) en un modelo de fibrosis hepática inducida por CCl₄ y con la administración repetida de tioacetamida (TAA) en ratas. La administración oral de GLE disminuyó la fibrosis hepática inducida por TAA. Asimismo, la Universidad Normal del Sur de China, analizó la actividad hepatoprotectora ante el virus de la hepatitis B de un líquido fermentado de *G. lucidum* suplementado con un extracto de *Radix Sophorae flavescens*. Los resultados indicaron que la mezcla de *G. lucidum* y *R. flascensis* tienen excelentes efectos positivos ante el daño hepático ocasionado por el virus (Li *et al.*, 2006).

En una investigación realizada por el Instituto Amala de Ciencias Médicas, concluyeron que *G. lucidum* protege el hígado del estrés oxidativo mitocondrial y mejora la actividad de la cadena de transporte electrones, al realizar un ensayo en el que se intoxicaba a ratones con tetracloruro de carbono. Por lo que, el efecto protector de *G. lucidum* contra el daño hepático podría estar mediado por la disminución en el estrés oxidativo y la restauración de la actividad de las enzimas mitocondriales (Sudheesh *et al.*, 2012). Se han propuesto algunos mecanismos de acción del efecto hepatoprotector sobre el organismo (**Figura 11**), sin embargo, se requieren más estudios para explorar la cinética y los mecanismos de acción de los componentes de *G. lucidum* con actividades hepatoprotectoras.

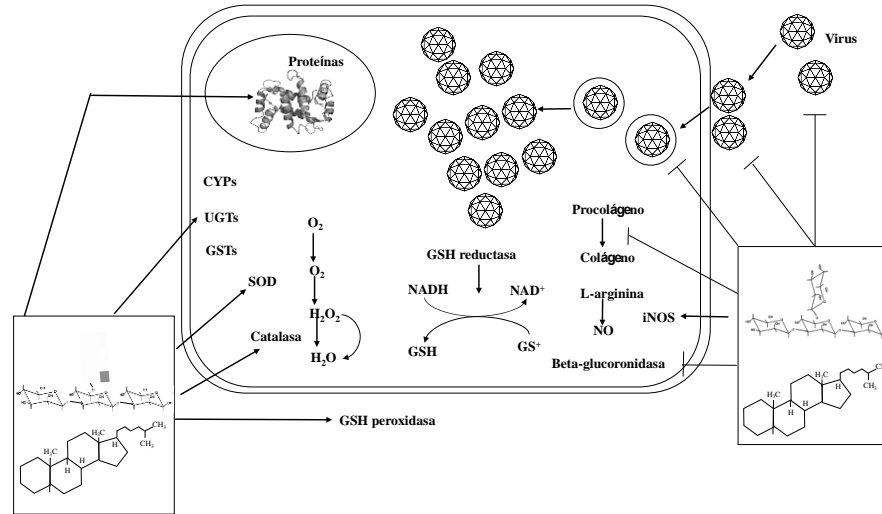


Figura 11. Posibles mecanismos para los efectos hepatoprotectores de *G. lucidum*. Estos incluyen los efectos antioxidantes y de eliminación de radicales, la regulación negativa de las enzimas activadoras y la regulación positiva de las enzimas detoxificantes, las actividades antivirales, la inhibición de la b-glucuronidasa, la síntesis de ácidos nucleicos hepáticos y proteínas mejorados, la inhibición de la síntesis del colágeno hepático, los efectos inmunomoduladores y la modulación de la producción de óxido nítrico. Adaptado de Gao *et al.*, 2003a.

1.6.6.6. Efecto antidiabético

Se ha demostrado que la combinación de diabetes y otros factores de riesgo de ECV, como la hipertensión y la dislipidemia, aumentan el riesgo de mortalidad en los pacientes (Goff *et al.*, 2007). Estudios en animales han mostrado que las fracciones de polisacáridos de *G. lucidum* tienen actividades hipoglucémicas e hipolipidémicas. Extractos de *G. lucidum* disminuyeron los niveles aumentados de insulina y glucosa en la sangre en ratas después de la prueba de glucosa oral. Se inhibió el aumento de la glucosa en la sangre sin elevar los niveles de insulina en la sangre. Los glicanos (ganoderanos B y D) han demostrado una actividad hipoglucémica significativa en ratones (Solomon, 2005). En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se realizó un estudio que mostró que Ganopoly, un extracto de *G. lucidum* es tolerable en los pacientes, eficaz y seguro en la reducción de las concentraciones de glucosa en sangre (Gao *et al.*, 2004a).

Conjuntamente, estudios muestran que los genes Insig-1 e Insig-2 presentan un papel importante en la homeostasis de la glucosa (Krapivner *et al.*, 2007), además tienen una función clave en la regulación del colesterol intracelular y el metabolismo de las grasas (Goldstein, DeBose-Boyd & Brown, 2006). La sobreexpresión hepática de Insig-1 (o Insig-2)

inhibe la activación de SREBP-1c en el hígado, el cual es un factor clave en el control del metabolismo de la glucosa hepática y en la homeostasis de la glucosa asociada con la insulina (Espenshade & Hughes, 2007; Herbet *et al.*, 2006; Horton, Goldstein & Brown, 2002). Un grupo de investigadores demostraron en ratas diabéticas que bajo un tratamiento con esporas de *G. lucidum* se mejora significativamente las composiciones lipídicas en sangre, por lo que, puede ser una terapia eficaz para el tratamiento de la hiperlipidemia causada por la diabetes mejorando los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en la sangre, a través del aumento del nivel de expresión génica de la sintetización de glucógeno (GS2 y GYG1) y la homeostasis de la glucosa (Insig-1 e Insig-2) (**Figura 12**)(Wang *et al.*, 2015).

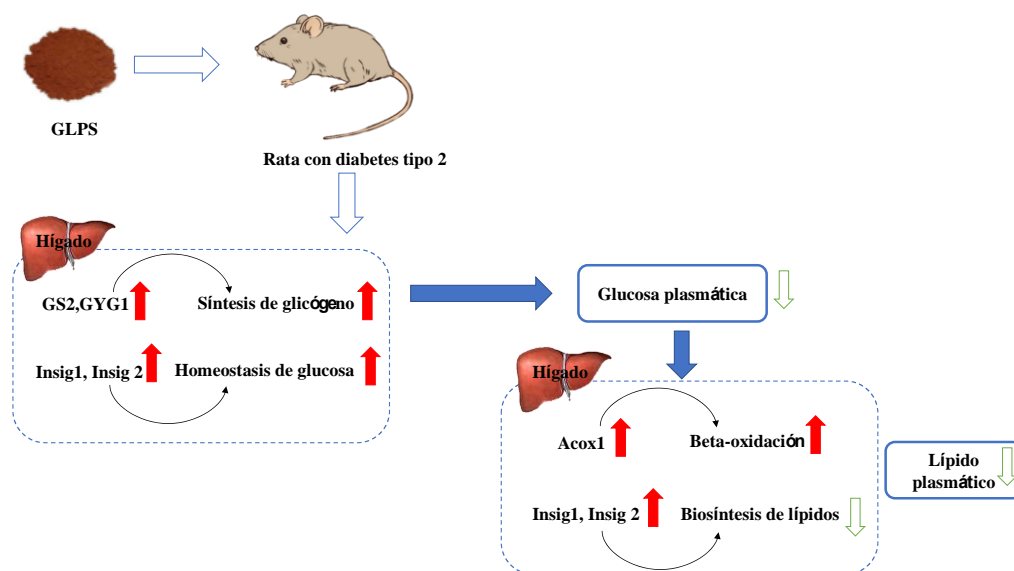


Figura 12. Regulación de genes en vías metabólicas manipuladas por GLSP en la dieta de ratas diabéticas de tipo 2. Nota: Las flechas en rojo y verde indican la regulación positiva del gen o la regulación negativa, respectivamente. La intervención GLSP redujo el nivel de glucosa en sangre a través del aumento de la síntesis de glucógeno (GS2 y GYG1) y la homeostasis de la glucosa (Insig-1 e Insig-2). La reducción de los lípidos plasmáticos se produce después de la administración de GLSP, por lo que podría estar asociada con el aumento de la expresión de genes de Acox1 e Insig-1/2. Adaptado de Wang *et al.*, 2015.

1.6.6.7. Efecto en enfermedades cardiovasculares

Los principales factores de riesgo que conllevan a las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la hiperlipidemia, hipertensión y tabaquismo. Las ECV se caracterizan por el aumento de triglicéridos y la disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL) acompañadas con lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas ya sea con cLDL normal o ligeramente elevado (Núñez-Cortés, 2017). Se ha demostrado que los lípidos son indispensables para la combustión biológica, almacenamiento de energía y formación de membranas celulares, sin embargo, una elevación crónica en el perfil lipídico tiene consecuencias patológicas para la salud cardiovascular.

Se ha observado que el consumo excesivo de alimentos ricos en grasas saturadas incrementa las concentraciones sanguíneas por encima de un consumo de colesterol (Appleton & Vanbergen, 2013). En el cuerpo humano la homeostasis del colesterol es controlada principalmente por la síntesis endógena, la absorción intestinal y la excreción hepática del colesterol dietético. Varios factores de transcripción llevan a cabo estos procesos que son fundamentales para el entendimiento de la regulación del metabolismo del colesterol. La proteína de unión al elemento regulador del estero 2 (Srebp2) es el regulador clave de la expresión génica asociada a la síntesis del colesterol, incluyendo la enzima limitante de la velocidad 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA). La activación de Srebp2 controla la expresión del receptor de lipoproteína de baja densidad (Ldl), que regula la absorción de LDL-C por el tejido hepático (Meneses *et al.*, 2016). Asimismo, el colesterol hepático en forma de oxiesteroles aumenta la expresión del factor regulador del estero 1c (Srebp1c) debido a que representa un grupo de ligandos para el factor de transcripción del receptor X del hígado (LXR). Srebp1c activa la expresión de los genes lipogénicos (Repa *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que *G. lucidum* en polvo administrado al 5% en la dieta de ratas hipertensas durante 4 semanas, disminuyen significativamente el colesterol total plasmático (18,6%) en comparación con los controles, asimismo, los niveles totales de triglicéridos hepáticos y de colesterol hepático reducen ante su consumo (Kabir, Kimura & Tamura, 1988; Soo, 1996). Asimismo, el consumo de extractos de *G. lucidum* en altas dosis reduce el

colesterol hepático en un 51,9%, así como los niveles de triglicéridos hepáticos entre un 43,8% y 56,5%. Además, estos extractos reducen significativamente la expresión de genes lipogénicos como *Srebp1c*, *Acaca* y *Fasn*. Por tanto, se reduce la síntesis de ácidos grasos hepáticos y la acumulación de triglicéridos, y disminuye el riesgo de padecer ECV y diabetes (Meneses *et al.*, 2016).

Por otro lado, un estudio realizado por el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos y el Departamento de Nutrición y Ciencias de la Salud de la Universidad de Nebraska demostraron que la concentración alta de colesterol sérico puede ser tratada analizando la microbiota intestinal, la cual no se encontraba asociada previamente con el metabolismo del colesterol, sin embargo, actualmente presenta un papel fundamental (Martínez *et al.*, 2009). Otros análisis mostraron la importancia de la microbiota intestinal en la regulación en la homeostasis del colesterol del cuerpo entero y su asociación directa con el desarrollo de ECV aterosclerótica (Koren *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011).

1.7. Biotecnología aplicada a los hongos comestibles y medicinales

La biotecnología se define como un área multidisciplinaria y tecnológica con aplicaciones que utilizan sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (Convention on Biological Diversity, 1992). Una de las aplicaciones de la biotecnología es el uso de hongos como materia prima para el desarrollo de alimentos funcionales debido a sus propiedades medicinales. Dado a los metabolitos secundarios producidos por los macromicetos, se han aislado del basidiocarpo y extraído compuestos bioactivos mediante procesos biotecnológicos con la finalidad de emplearse en la producción de medicamentos comerciales. Sin embargo, es importante asegurar altos rendimientos y la estabilidad funcional de la biomasa de estos alimentos, lo cual se logra mediante la implementación de métodos moleculares como la secuenciación y modificación genética, y desarrollo de nuevas y mejores cepas con alta productividad.

En la actualidad disciplinas como la genómica, proteómica conjuntamente con la bioinformática, han contribuido al desarrollo de la biotecnología de los hongos (Aguilar, 2012). Se observan dos tendencias en la biotecnología de hongos comestibles y medicinales; la biotecnología aplicada en hongos comestibles derivada de las técnicas tradicionales, con

innovaciones biológicas, mecánicas y locales derivadas de un contexto social, económico y ecológico, y la biotecnología moderna que emplea nuevas tecnologías que permiten el estudio y manipulación directa del material genético (ADN) de los hongos comestibles y medicinales, (Martínez-Carrera *et al.*, 2006). Para un cultivo adecuado de los hongos comestibles y medicinales son fundamentales las fuentes de carbono, nitrógeno y compuestos inorgánicos como fuentes nutritivas (Wood & Fermor, 1982). El cultivo en medio sólido es el más utilizado para la propagación del micelio y su posterior empleo en la producción de “semilla”, y consiste en el crecimiento de micelio en granos de cereales (trigo, sorgo, arroz, etc.). Al obtener el inóculo-grano se mantiene en condiciones óptimas para su conservación hasta su uso en la inoculación sobre el sustrato que se empleará para la producción de cuerpos fructíferos. También, puede realizarse la obtención de la “semilla” en medio líquido utilizando el micelio crecido con el objetivo de producir una mayor cantidad de biomasa de mejor calidad en menor tiempo. Además, se favorece la adaptación y dispersión del hongo en el trigo con una fácil manipulación durante la siembra (Guillen-Navarro *et al.*, 1998). Por otro lado, existe otra técnica, el cultivo en bolsa que incrementa el número de especies convencionalmente cultivadas, estas son capaces de crecer con sustratos compuestos por aserrín y desechos agro-industriales (semillas de algodón, olotes, semillas de girasol, residuos de papel, etc.). La técnica de cultivo en bolsa presenta la ventaja de tener un mayor control de experimentación durante el proceso de cultivo (Rendón, 2015).

1.7.1. Cultivo de *Ganoderma lucidum*

Y. Naoi en 1970 realizó exitosamente el cultivo artificial masivo del cuerpo fructífero de *G. lucidum* en sustratos solidos (Mizuno,1997). Posteriormente, el cultivo sólido artificial se expandió y fue adoptado por los cultivadores con la finalidad de producirse para su venta comercial, utilizando madera leñosa y troncos de árbol (Mayzumi *et al.*, 1997; Naoi, 1997) en bolsas de aserrín y botellas (Chang & Miles, 1989; Quimio, 1986; Tong & Chen, 1990). Estas técnicas de cultivo presentan la ventaja de producirse en un menor tiempo y con altos rendimientos (Chang & Miles, 1989), así, los sustratos pueden ser modificados para mejores resultados. *Ganoderma* puede crecer en sustratos de maderas duras y desechos agrícolas (Triratana, Thaithatgoon & Gawgla, 1991).

Los métodos artificiales de cultivo involucran típicamente cinco etapas: 1) elaboración del inóculo, 2) siembra, 3) formación del primordio, 4) desarrollo del cuerpo fructífero y 5) cosecha (Chen & Yu, 1993; Stamets, 1993). De manera general, el inóculo es distribuido en el sustrato estéril, e incubado hasta que el micelio coloniza el sustrato. Se disminuyen la temperatura y los niveles altos de dióxido de carbono hasta la formación del píleo. Una vez obtenido el largo deseado del cuerpo fructífero, este es cosechado. El ciclo de cultivo desde la elaboración del inóculo hasta la obtención del carpóforo varía de 90 a 120 días (Stamets, 1993), dependiendo de los métodos de cultivo utilizados. Para el máximo aprovechamiento de los compuestos bioactivos de hongos comestibles y medicinales los métodos de extracción más importantes son: la maceración, reflujo, extracción por arrastre con vapor de agua, extracción continua, extracción asistida por microondas y ultrasonido, entre otros (**Tabla 11**)

Tabla 11. Métodos de extracción de compuestos bioactivos en hongos

Métodos de extracción	Descripción
Maceración	Consiste en remojar el material a extraer con un disolvente, hasta su máxima absorción en los tejidos ablandando y disolviendo las porciones solubles. En un recipiente de vidrio que no reaccione con el disolvente se coloca el material a extraer y se cubre con el disolvente elegido. Se tapa y se deja en reposo, con agitación esporádica. Posteriormente se filtra el líquido y si el material contuviera las sustancias de interés, se repite el proceso con disolvente fresco (puro) las veces necesarias.
Reflujo	El material fragmentado disuelto en un disolvente se somete a ebullición. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor extracción de los componentes deseados ya que la solubilidad. Una principal desventaja del método es que muchos compuestos termolábiles se alteran o descomponen. Consiste en colocar el material fragmentado en un recipiente cónico o cilíndrico, hasta pasar un disolvente apropiado a través del mismo.
Extracción por arrastre con vapor de agua	Consiste en destilar el líquido de interés con vapor de agua solo si el líquido orgánico es insoluble en agua y tiene una presión de vapor apreciable a la temperatura de ebullición.
Extracción continua	Existen tres diseños básicos de aparatos para realizar una extracción continua (Lamarque, <i>et al.</i> , 2008) <ol style="list-style-type: none"> 1. Aparato de Soxhlet para extracción sólido-líquido. 2. Aparato para extracción líquido-líquido con un disolvente menos denso que la solución que contiene la sustancia a extraer.
Aparato para extracción líquido-líquido con un disolvente más denso	<ol style="list-style-type: none"> 1.Extracción asistida por microondas 2.Extracción asistida por ultrasonido 3.Extracción mediante tratamiento enzimático 4.Extracción fluidos supercríticos

Fuente: Petlalcalco (2016).

G. lucidum puede ser cultivado en sustratos sólidos sintéticos formulados a base de diferentes residuos agroindustriales. Su cultivo produce rendimientos menores en comparación a los hongos comestibles cultivables. Sin embargo, la especie mexicana de *G. lucidum* (cepa CP-145) se ha cultivado en medios y sustratos convencionales, así como modificados a través de la adición de ácido acetilsalicílico (AAS) debido a su efecto sobre el rendimiento, la composición y propiedades funcionales de los extractos hidroalcohólicos (Martínez- Carrera *et al.*, 2016).

1.7.2. Cultivo de la cepa CP-145 de *Ganoderma lucidum*

La especie de *G. lucidum* (cepa CP-145), fue aislada de un basidioma silvestre del Estado de Morelos. Esta cepa se encuentra en el Centro de Recursos Genéticos de Champiñones Comestibles, Funcionales y Medicinales (CREGEN-HCFM), del Colegio de Posgraduados, Campus Puebla. La secuencia genética de la cepa CP-145 se encuentra en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), con el número de acceso LN998989. El mantenimiento de la cepa CP-145 se subcultiva en agar extracto de malta (EMA, Bioxon), se esteriliza constantemente en la autoclave a 121°C por 15 min, y se incuba a 28-29°C. Para el cultivo y crecimiento, se preparan dos bolsas de plástico (control y tratamiento) con aserrín de roble (*Quercus acutifolia Née*). En ambas bolsas se agrega 1,000 g de aserrín. En la bolsa control se añade agua destilada (1,300 ml), y en la de tratamiento una solución de ácido acetilsalicílico (AAS, 10 mM, Sigma-Aldrich, EE.UU.). Se agrega AAS en el sustrato para obtener un mayor rendimiento e incremento en los compuestos bioactivos(ácido ganodérico) de *G. lucidum*. Ambas bolsas se mezclan homogéneamente y se esterilizan a 121°C durante 90 minutos. Después, los sustratos estériles se inoculan mediante una mezcla de 50g de cepa CP-145 por kg de peso de sustrato fresco (5%, p/p). Las bolsas inoculadas, se sellan y se colocan en estantes para incubarse en la oscuridad (24-25°C), con humedad relativa (60-70%) y ventilación natural, permitiendo el paso de una luz diurna indirecta (aproximadamente 12 h) durante el ciclo de fructificación.

Las basidiomas maduros de cada bolsa, se cortan en rodajas (aproximadamente de 1 a 2 cm); y se secan a 40°C en un horno de aire forzado (SMO28-2, ShellLab, USA) durante cinco días y se almacenan a -26°C en bolsas de plástico. Las rodajas de los hongos secos se cortan y se muelen para después colocar 10 g del producto en una bolsa de papel filtro (8 µm) para su maceración con 150 ml de tequila blanco (100 años) por 24 h. Finalmente, se obtienen los

extractos hidroalcohólicos (32% en volumen) de acuerdo con la patente (MX322035-B, Julio 8, 2014, Martínez-Carrera *et al.*). Los extractos se concentran a 10 ml en un evaporador rotatorio rotatorio (HS-2000NS, Hahn Shin Scientific, Corea del Sur) a 38 °C. Luego se esterilizan con papel filtro (poro medio), se filtran al vacío y se almacenan en tubos Falcón esteriles (15 ml) a 4 °C hasta su uso (Meneses *et al.*, 2016).

1.7.3. Adición de ácido acetilsalicílico al sustrato de la cepa CP-145 de *Ganoderma lucidum*

El ácido salicílico (AS) proviene del sauce (*Salix* sp.), un árbol cuyas hojas y corteza se utilizaban como cura para el dolor y fiebre. Johann Buchner en 1828 aisló por primera vez la salicina. Años más tarde, se inició la producción comercial de AS en Alemania, y fue hasta 1898 que se le otorga el nombre comercial de aspirina por la Bayer Company (Raskin, 1992). Actualmente es conocido y utilizado debido a sus aplicaciones clínicas.

El AS es un compuesto que se encuentra en todos los tejidos de las plantas, pertenece a un grupo de sustancias denominadas como fenólicos. Los compuestos fenólicos están involucrados en diversas actividades de regulación en el metabolismo secundario de las plantas, por lo que, su concentración se eleva cuando las células, órganos o plantas se someten a acciones de estrés biótico o abiótico. Ante estas circunstancias, el AS interviene en la cascada de señalización para generar respuestas de adaptación en ambientes extremos, como la expresión de los sistemas de control del daño oxidativo, y la inducción de la resistencia sistémica adquirida en el caso de patogénesis. De esta manera, el Ácido Acetil Salicílico (AAS) se origina del uso de diversos productos de plantas que contienen salicilatos (Rendón, 2015). El AAS se muestra en forma de un polvo cristalino con punto de fusión entre 135–137°C, se descompone a 140°C. Su solubilidad en agua es a los 25°C (Austin, 1984).

La biosíntesis de los triterpenoides (por ejemplo, ácidos ganodéricos) procede mediante la vía mevalonato/isoprenoide. El acetyl-CoA se utiliza para sintetizar mevalonato y pirofosfato de isopentenilo, que posteriormente se convierte en pirofosfato de farnesilo (Hirotsu, Asaka & Furuya, 1990; Shiao, 1992). Se ha propuesto que el escualeno sintasa (SQS) y lanosterol sintasa (LS) participan en la formación de escualeno y lanosterol, respectivamente (Shang *et al.*, 2010; Zhao, *et al.*, 2007). La biosíntesis de los productos finales de los ácidos ganodéricos

se sintetiza a partir del lanosterol mediante una serie de etapas de oxidación, reducción, hidroxilación y acetilación (Xu, Zhao & Zhong, 2010). Debido a la importancia de estos compuestos presentes en *Ganoderma*, se han realizado estudios que demuestran que al cultivarse en un medio sólido se obtiene una mayor producción de estos ácidos.

Un estudio mostró que la apoptosis de células de inducción mejora la producción de metabolitos secundarios de hongos. Los investigadores incubaron con aspirina el micelio fúngico de *G. lucidum* y evaluaron la apoptosis celular. Se midió la producción y la expresión de genes implicados en la biosíntesis de ácidos ganodéricos. Los resultados obtenidos indican que el ácido acetilsalicílico induce la apoptosis celular en *G. lucidum* y coincide con la biosíntesis de los ácidos ganodéricos. Por tanto, el ácido acetilsalicílico mejora la producción de metabolitos secundarios en *G. lucidum* e incluso podría funcionar con otros hongos y plantas medicinales (You *et al.*, 2013).

1.8. Propiedades de los extractos de *Ganoderma lucidum*

Las principales partes medicinales del hongo son las esporas, que contienen los esporóforos, el cuerpo fructífero y el micelio. Diferentes componentes y cantidades de químicos e ingredientes activos están presentes dependiendo del componente que se utilice y del método de extracción (Shiao, 2003).

Existen diversos artículos que muestran las propiedades anticancerosas de *G. lucidum*, debido a que inhiben la proliferación e inducción de apoptosis de diferentes tipos celulares de leucemia, linfoma y mieloma utilizando extractos estandarizados del hongo (Muller *et al.*, 2006; Silvia, 2003). Los extractos acuosos de polisacáridos aislados del cuerpo fructífero de *G. lucidum* producen un alto porcentaje de ingredientes biológicamente activos para la inmunoestimulación (Zhang & Lin, 2004). También, han mostrado beneficios al sistema cardiovascular incluyendo la inhibición de la síntesis de colesterol (Komoda *et al.*, 1989) y efectos antioxidantes (Lee *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 1999; Lai, *et al.*, 2006). Los ganoderanos A y B obtenidos del extracto, tiene efectos hipoglucémicos (Hikino *et al.*, 1985). Asimismo, un extracto acuoso crudo y el proteoglicano de los cuerpos fructíferos de *G. lucidum* presenta efectos antidiabéticos, antihiperlipidémicas y antioxidantes en ratones (Pan *et al.*, 2013; Oluba *et al.*, 2014; Deepalakshmi & Mirunalini, 2013).

Un extracto acuoso de *G. lucidum* aplicado en ratones diabéticos disminuyó la glucosa en suero y la expresión hepática de la actividad del fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (Seto *et al.*, 2009). Al realizar un ensayo con diferentes tipos de extractos a concentraciones no citotóxicas en células uroepiteliales humanas (HUC) se observó un mayor efecto inhibitor del extracto alcohólico en comparación a un extracto acuoso. Por tanto, los extractos etanólicos presentan una mayor efectividad en comparación a los acuosos (Lu *et al.*, 2004). Otros efectos farmacológicos descritos para los extractos etanólicos de *G. lucidum* son las propiedades antiinflamatorias, propiedades antihepatotóxicas, hipocolesterolemiantes y antibacterianas frente a bacterias Gram-positivas, así como el incremento de la actividad antibacteriana de antibióticos cuando se administran conjuntamente con un extracto acuoso de *G. lucidum* (Paterson, 2006; Zjawiony, 2004).

En México, la biotecnología se encuentra en una fase de expansión que requiere de investigación, desarrollo y comercialización de productos que aprovechen la diversidad de fauna y flora del país, por ejemplo, la implementación de estrategias integrales para los recursos genéticos nativos de hongos comestibles y medicinales de México. El Colegio de Posgraduados, *Campus* Puebla, desarrolló un producto biotecnológico de alto valor nutricional y económico, un extracto hidroalcohólico (32% por volumen) de una especie mexicana de *G. lucidum* (cepa CP-145) utilizando una metodología de extracción estandarizada y patentada, donde las mejores condiciones para la obtención de compuestos bioactivos con propiedades funcionales y un menor costo requieren de 10 g de píleo cultivado en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM + 150 mL de solvente con 24 h de maceración filtrado al vacío con filtro de poro medio (Martínez-Carrera *et al.*, 2014).

Posteriormente, se realizó el primer estudio en nutrigenómica sobre el efecto de los extractos estandarizados de esta especie mexicana sobre el metabolismo de lípidos en un modelo animal, determinando su impacto potencial en enfermedades cardiovasculares, obesidad y síndrome metabólico. Se analizaron los extractos estandarizados de *G. lucidum* (Gl) cultivados en sustrato con ácido acetilsalicílico (10 mM) en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en colesterol, con la finalidad de evaluar los efectos de los extractos sobre los parámetros bioquímicos séricos, el contenido de lípidos del hígado, el metabolismo del colesterol, y la composición de la microbiota intestinal (Meneses *et al.*, 2014; 2015a-b; 2016).

En este estudio se observó que el extracto GI-1(control) y GI-2(cultivo adicionado con AAS) reducen significativamente el colesterol total en suero (por 19,2% a 27,1%), LDL-C (por 4,5% a 35,1%), la concentración de triglicéridos en plasma (por 16,3% a 46,6%), colesterol hepático (por 28,7% a 52%) y los triglicéridos hepáticos (por 43,8% a 56,6%). Respecto a los efectos prebióticos de los extractos GI-1 y GI-2 modulan la composición de la microbiota intestinal y aumentan el nivel de género *Lactobacillus* en comparación con el grupo control. En la siguiente **Tabla 12** se muestra la composición nutrimental de los extractos.

Tabla 12. Composición de los extractos de *G. lucidum* (cepa CP-145)

Macronutrientes y compuestos	GI-1 (control)	GI-2 (adicionado con AAS)
Carbohidratos	0.58%	0.58%
Glucanos	15.96%	17.01%
α -glucanos y β -glucanos	14.18% y 1.77%	15.14% y 1.87%
Proteína total	0.315%	0.365%
Fibra dietética total	0.1%	0.15%
Grasas	0.01%	0.01%
Vitaminas	B1, B2, B3, B6, B12, D	
Minerales	Ca, Fe, Mg, K, Se, Na, Zn, P	

Fuente: Meneses *et al.* (2016).

1.9. Estudios de dosis letal

Hoy en día, es fundamental realizar estudios de toxicidad para el desarrollo de nuevos fármacos, sustancias químicas industriales y alimentos para evaluar el riesgo que un agente químico o físico puede ocasionar sobre la salud humana. Se dispone de dos vías para evaluar la posible toxicidad o efectos adversos; la primera hace uso de animales (**Tabla 13**), y la segunda son los estudios epidemiológicos retrospectivos. Un estudio de toxicidad debe llevarse a cabo acorde a las buenas prácticas de laboratorio (ó GLPS de "Good Laboratory Practices"), es decir, que deben implementarse procedimientos normalizados de trabajo para cada una de las manipulaciones efectuadas. Se requiere de la participación multidisciplinaria de profesionistas, condiciones ambientales especiales para garantizar la no interferencia de factores ajenos a la sustancia ensayada, así como condiciones de temperatura y humedad

controlados para los animales de experimentación, libres de patógenos y deben ser manipulados con trajes especiales para evitar la contaminación(IQB, s.f).

Tabla 13. Especies animales comúnmente utilizadas en estudios toxicológicos regulados

Tipo de estudio	Especies primarias	Especies alternativas
Toxicidad aguda	Rata, ratón	
Toxicidad multidosis	Rata, perro	Ratón, mono.
Carcinogenicidad	Rata, ratón	
Mutagenicidad In Vivo	Ratón	
Desarrollo y reproducción	Rata, conejo	Ratón, hamster, mono.
Neurotoxicología	Rata	Ratón
Inmunotoxicología y sensibilización	Ratón, cerdo de Guinea	Rata

Fuente: Jacobson & Keller (2001).

Los ensayos de toxicidad aguda implican la exposición a una sola dosis mínima y dosis letal (DL₅₀) con la finalidad de observar una reacción adversa inmediata o de corto plazo (Ramírez & Soto, s.f.). La sustancia o compuesto se administra en animales de una especie en particular, cepa, edad y peso que son mantenidos bajo condiciones controladas de dieta, jaulas, temperaturas, humedad relativa y tiempo de dosificación. En 1917 se introdujo el concepto de dosis letal el cual representa la muerte de la mitad (50%) de la población estudiada. Los roedores son la especie más utilizada en los estudios de toxicidad debido a que eliminan rápidamente las sustancias a estudiar, así como su fácil manipulación y crianza, no obstante, los principios éticos recomiendan trabajar con un reducido número de animales para cada dosis (Rivera *et al.*, 2006). Los principales objetivos de realizar estudios de toxicidad aguda se observan en la **Figura 13**.

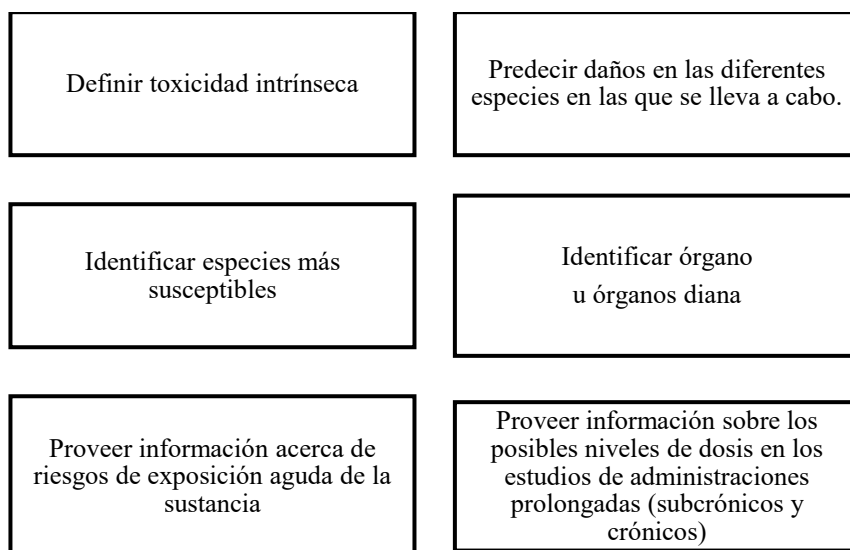


Figura 13. Principales objetivos de un análisis de toxicidad aguda. (Rivera *et al.*, 2006)

Realizar un análisis de toxicidad es importante para una formulación de medidas de seguridad y manejo de la sustancia correcta, así como establecer una la relación estructura-efecto y mecanismo de acción del tóxico (Rivera *et al.*, 2006). Los factores que influyen en un estudio de toxicidad aguda se observan en **Tabla 14**:

Tabla 14. Factores que influyen en los ensayos de DL₅₀

Factor a considerar	Descripción
Especies	Diferencias metabólicas
Cepas	Deficiencias enzimáticas
Sexo	Nivel hormonal/preñación
Edad/peso	Hígado/función renal: actividad microsomal enzimática
Medio ambiente	Alojamiento, manejo de humedad relativa, temperatura, actividad.
Dieta	Proteína: grasa, proporción
Modo de administración	Ruta/velocidad de administración
Formulación	Vehículo, volumen, pH, osmolaridad

Fuente: Rivera, M., Macias, L., Tinoco, M., Gracia, I., Ruíz, L. 2006.

En 1997 el Comité de Productos Medicinales Patentados (CPMP) definió la regla de las 3R como objeto para reducir el número de animales sacrificados anualmente en los estudios de toxicidad (**Figura 14**).

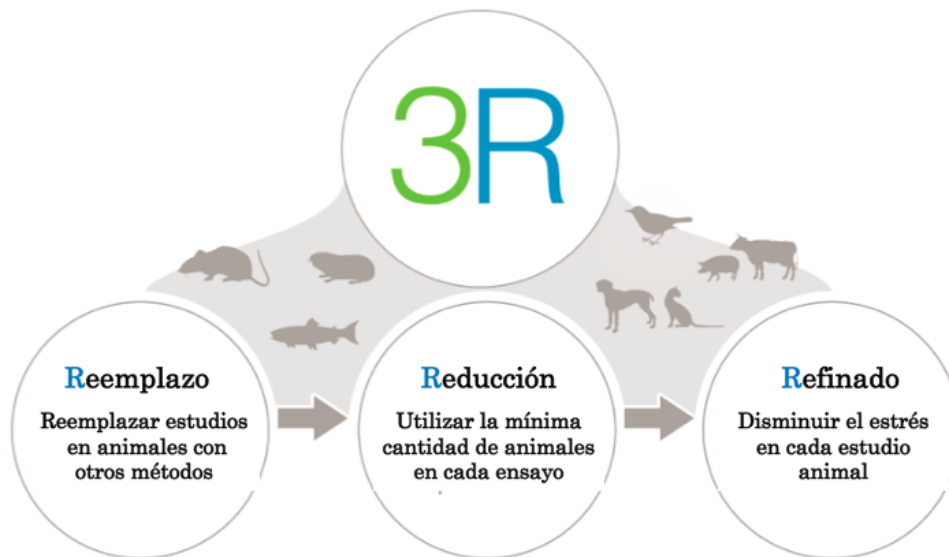


Figura 14. Regla 3R. (Adaptado de Bayer, 2017).

En el caso de los estudios de toxicidad aguda, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) aprueba el uso de tres principales protocolos, “Acute Toxic Class Method (ATC/423)”, “Fixed dose procedure (420)” y “Up and down procedure (425)”. Los tres protocolos permiten el uso mínimo de animales para el análisis de toxicidad y recomiendan emplear ratas hembras entre 8-12 semanas de edad. Respecto a las dosificaciones evitan la administración de dosis que se espera que sean letales, sólo dosis moderadamente tóxicas. Además, el objetivo principal de los protocolos mencionados es determinar los posibles efectos adversos de una sustancia para estimar la relación cuantitativa entre la intensidad de la respuesta biológica medible y la concentración de la sustancia a administrar. En la **Tabla 15** se describe de manera general en que consiste cada protocolo:

Tabla 15. Protocolos de la OECD para evaluar la toxicidad en animales

Protocolo	Principio del test	Consideraciones
420(1992)	<p>Los grupos de animales (5 animales de un solo sexo por dosis) se dosifican en un procedimiento escalonado con dosis fijas de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg (excepcionalmente puede considerarse una dosis fija adicional de 5000 mg/kg)</p>	<p>La sustancia de ensayo se administra en una sola dosis por sonda gástrica utilizando un tubo de estómago o una cánula de intubación adecuada.</p> <p>Los animales deben mantenerse en ayunas antes de la dosificación. Todos los animales deben ser observados durante al menos 14 días.</p>
423(1996)	<p>Es un procedimiento escalonado que utiliza tres animales de un solo sexo para cada paso.</p> <p>El nivel de dosis a utilizar como dosis inicial se selecciona de uno de los cuatro niveles fijados, 5, 50, 300, 2000 y 5000 mg/kg de peso corporal. El nivel de dosis inicial debe ser el que más probablemente produzca mortalidad en algunos de los animales dosificados.</p>	<p>La sustancia de ensayo se administra en una sola dosis por sonda gástrica utilizando un tubo de estómago o una cánula de intubación adecuada.</p> <p>Los animales deben mantenerse en ayunas antes de la dosificación. Todos los animales deben ser observados durante al menos 14 días.</p>
425(1999)	<p>Analizar sustancias que producen la muerte dentro de uno o dos días. La prueba principal consiste en una progresión de dosis ordenada única en la que los animales se dosifican, con un intervalo mínimo de 48 horas. El primer animal recibe una dosis por debajo de la DL50 estimada. Si el animal sobrevive, la dosis para el siguiente animal se incrementa 3,2 veces la dosis original; Si muere, la dosis para el siguiente animal disminuye.</p> <p>Cada animal debe ser observado cuidadosamente por hasta 48 horas antes de cambiar la dosis inicial.</p>	<p>Se puede emplear una prueba límite que es secuencial y utiliza un máximo de 5 animales. Puede utilizarse una dosis de ensayo de 2000, o excepcionalmente 5000 mg / kg.</p> <p>El ensayo límite se utiliza cuando el experimentador tiene información de que el material de prueba no sea tóxico acorde al reglamento. En caso de tener poca o ninguna información de la sustancia y/o material sobre su toxicidad, se debe realizar la prueba principal.</p>

1.9.1. Estudios de toxicidad en *Ganoderma Lucidum*

El Instituto Nacional del Cáncer (NIH) define la toxicidad como una medida en que algo es venenoso o dañino para el organismo (NIH, s.f.). Otro concepto de toxicidad se define como “el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos deletéreos ocasionados por agentes químicos o físicos sobre la estructura y función de los sistemas vivos y la aplicación de estos estudios para la evaluación de la seguridad y la prevención de daños al hombre y a las formas de vida útiles” (Hayes, 1975). El término cualitativo se refiere al tipo de órgano diana afectado, en comparación con otras sustancias conocidas, mientras que el término cuantitativo se refiere a la relación dosis-respuesta. De acuerdo con lo anterior, es difícil dividir el efecto tóxico del efecto farmacológico, por lo que, Paracelso afirmó en el siglo XVI, “todas las sustancias son tóxicas, solo la dosis determina la toxicidad” (Jurado 1989; Donal, 1997).

Un estudio de toxicidad aguda se refiere al desarrollo acelerado de síntomas y efectos después de la aplicación de una dosis única relativamente alta en un organismo. En el caso del análisis de toxicidad en animales la observación se lleva a cabo después de la administración de la sustancia con duración de 14 días, posteriormente los animales son sacrificados y deben ser analizados anatomopatológicamente (Arencibia *et al.*, 2003). Existen pocos datos reportados sobre los efectos adversos a largo plazo en *G. lucidum* y sus derivados. Asimismo, son pocos los estudios sobre los efectos tóxicos de *G. lucidum* en humanos y menos comunes son los estudios de toxicidad aguda en animales, sin embargo, un estudio *in vitro* demostró que el extracto crudo de *G. lucidum* y el extracto de polisacáridos (PSGL) en altas concentraciones ($\geq 100 \mu\text{g/ml}$) puede causar toxicidad en las células del sistema inmune (células B) y afectar la viabilidad en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) después de 24 y 48 horas del tratamiento en adultos y niños sanos (Gill & Rieder, 2008).

En 1979 en Ontario se reportó por primera vez alergias en los pacientes, ocasionadas por el antígeno de *G. lucidum* (Tarlo *et al.*, 1979). Además, un estudio similar en Nueva Zelanda mostró los mismos efectos alérgicos a *G. lucidum* (Cutten *et al.*, 1988). En la India se realizó un muestreo aerobiológico debido a la alta prevalencia de esporas de *G. lucidum* en la atmósfera. Mediante pruebas intradérmicas en pacientes con alergias respiratorias se corroboró la alta reactividad y sensibilización cutánea a las esporas de *G. lucidum* en dicha población (Singh *et al.*, 1995). Además, *G. lucidum* tiene un efecto aditivo sobre los factores de

coagulación y prolongación del tiempo de protrombina. En pacientes con úlceras gástricas y hemorragia gastrointestinal activa, *G. lucidum* muestra un efecto anticoagulante que puede empeorar el cuadro clínico del paciente (Ulbricht *et al.*, 2010). Por el contrario, se mostró que los extractos acuosos de *G. lucidum* no presentan efectos embriotóxicos o neurotóxicos cuando se incuban con fibroblastos embrionarios de ratón (BALB/3T3) y células de neuroblastoma de ratón (N2a) (Smiderle *et al.*, 2015). En la siguiente **Tabla 16** se muestran diversos estudios de toxicidad de *G. lucidum*.

Tabla 16. Estudios de toxicidad de *G. lucidum*

Título	Cómo se usó GL	Dosis	Efecto
<p><i>Ganoderma lucidum</i> Spore Powder (Department of health and human services food and drug administration , 1999)</p>	<p>1)Toxicidad aguda: dosis oral de Spore polvo en ratones (con peso de 18-22g) 2)Toxicidad acumulativa: dosis oral de Spore polvo en ratones (con peso de 16-20g)</p>	<p>1) Se dosificó 2.15, 4.64 10 y 21.5 g/kg peso corporal en 40 ratones (20 hembras, 20 machos) por una semana. 2)Se dosifico inicialmente 2.15 g/kg de peso corporal en 60 ratones (20 hembras, 20 machos; 10 hembras, 10 machos para el grupo control) por 25 días. Dosis acumulativa 129 g/kg peso corporal.</p>	<p>1) No se observaron reacciones adversas ante la dosis de Spore Powder. El valor de LD₅₀ es mayor a 21.5 g/kg peso corporal. 2) No se observaron efectos significativos en el peso corporal, anomalías de los órganos internos (hígado, riñones y testículos) en los ratones con tratamiento en comparación al grupo control.</p>
<p>Nutritional Value of <i>Ganoderma</i> Extract and Assessment of its Genotoxicity and Anti-genotoxicity using Comet Assays of Mouse Lymphocytes (Chiu <i>et al.</i>, 2000)</p>	<p>Extracto en polvo de <i>Ganoderma</i>.</p>	<p>Toxicidad aguda y subcrónica: Se utilizaron 10 grupos de 10 ratones machos (27±30 g). El grupo de tratamiento recibió la solución de extracto de <i>Ganoderma</i> por vía oral a una dosis de 0,9259 g del extracto liofilizado /kg pc por 2 semanas.</p>	<p>No se encontró morbilidad ni comportamiento anormal en ningún grupo de tratamiento después de la administración del extracto de <i>Ganoderma</i>. Los niveles séricos de GOT, GPT y nitrógeno ureico no indicaron toxicidad aguda, se mantuvieron en los rangos normales. Todos los ratones vivieron hasta el final del estudio. Las histologías de hígado y riñón no revelaron anomalías en las células del tejido.</p>

<p>Effects of extracts from sporoderm-broken spores of <i>Ganoderma lucidum</i> on HeLa cells</p> <p>(Zhu <i>et al.</i>, 2000)</p>	<p>Extractos de esporas de <i>G. lucidum</i></p>	<p>Tres extractos con concentraciones de 0-4.8 mg/ml</p>	<p>El extracto I y el extracto III inhiben fuertemente el crecimiento de células HeLa. Además, el extracto III es capaz de bloquear el ciclo celular a La transición de la fase G1 a la fase S y la inducción de una marcada disminución del nivel de calcio intracelular.</p> <p>El rompimiento de las esporas de <i>G. lucidum</i> mejora la liberación de la actividad citotóxica.</p> <p>La incubación del extracto I durante 48 horas causó un efecto letal dependiente de la dosis en células HeLa con un valor de DL₅₀ de 4,7 mg / ml.</p> <p>El extracto podría influir en el ciclo celular y la transducción de la señal celular alterando el sistema de transporte de calcio.</p>
---	--	--	--

Toxicity of a traditional Chinese medicine, *Ganoderma lucidum*, in children with cancer

(Gill & Rieder, 2008)

Extracto crudo de *G.lucidum*, extracto de polisacáridos (PSGL) y extracto comercialmente disponible (Reishi) en forma de cápsula.

Para evaluar la toxicidad de los tres extractos se utilizaron en concentraciones de 1,5,10,20,30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 µg/mL).

Las células fueron incubadas por 24-48 horas en los extractos.

Viabilidad de células Jurkat:

Disminución significativa de viabilidad después de 48h con el tratamiento de Reishi

(20µg/m). Disminución de viabilidad después de 24h y 48h en altas concentraciones (100-350 µg/mL) del extracto de *G. lucidum*. Disminución de viabilidad en bajas y altas concentraciones de PSGL (10-350µg/mL).

Viabilidad celular de PBMCs de adultos sanos

Aumento significativo en la viabilidad celular después de 48 horas de tratamiento con GL de 5 µg/mL y PSGL de 1 y 5 µg/mL. Aumentos significativos en la viabilidad celular después de 300 µg/ml

de tratamiento con Reishi después de 24 horas.

Viabilidad celular de PBMCs de niños sanos (1,10,50, 100 y 200 µg/mL por 24 y 48 hrs)

A las 24 y 48 horas, disminuciones dependientes de la concentración en la viabilidad celular después del tratamiento GL y PSGL. Con Reishi al aumentar la concentración, aumenta la viabilidad celular en 100 y 200 µg/mL después de 24 y 48 horas de tratamiento. *G. lucidum* en altas concentraciones causa toxicidad en las células del sistema inmunológico, respecto a la viabilidad celular.

A non-toxic herbal remedy which enhance lymphocyte activity and cytokine secretion: *Ganoderma lucidum*

(Liang *et al.*, 2008)

Polvo de *G. lucidum* libre de metales pesados y microorganismos. El polvo se disolvió en una solución de sal (Balance Hank) hasta obtener una concentración de 100 mg/ml.

La toxicidad se probó en 2 grupos de ratas (70 ratas para cada grupo) con y sin *G. lucidum*. La dosis de *G. lucidum* se calculó en relación al peso de las ratas.

No se detectó toxicidad ni cambios físicos en las ratas. El peso corporal medio del grupo tratado con *G. lucidum* fue de 256 g, mientras que el del grupo con ausencias de *G. lucidum* fue de 247 g.

Antihyperglycemic Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on Streptozotocin-Induced Diabetic Mice

(Li , Zhang , & Zhong , 2011)

Polisacáridos en polvo del cuerpo fructífero de *G. lucidum* (GI-PS)

Toxicidad aguda:

Se utilizaron dosis de 500, 2500 y 5000 mg/ kg pc vía oral durante 48 h.

Los resultados indican que los GI-PS no causan cambios de comportamiento ni muerte de los ratones. El valor de DL₅₀ oral de GI-PS fue superior a 5000 mg/ kg pc. Se redujo la hiperglucemia en los ratones diabéticos tratados con GI-PS.

La dosis de 150 mg/kg de GI-PS es más eficaz que la de 50 mg/kg, ya que produjo una caída significativa en los niveles de glucosa en ayunas (FBG). Se redujeron los niveles de lípidos después de la suplementación de GI-PS.

<p>Protective effects of <i>Ganoderma lucidum</i> spore on cadmium hepatotoxicity in mice</p> <p>(Jin <i>et al.</i>, 2013)</p>	<p>Esporas de <i>G. lucidum</i> 0,1, 0,5 y 1,0 g / kg, po</p>	<p>La espora de <i>G. lucidum</i> es eficaz en la protección contra la hepatotoxicidad inducida por Cd (II). Disminuyó la acumulación de Cd (II) en los núcleos hepáticos, las mitocondrias y los microsomas, pero aumentó la distribución de Cd (II) al citosol, donde Cd (II) es secuestrado por la metalotioneína, una proteína contra la toxicidad de Cd (II).</p>	
<p>Hepatoprotective effect of <i>Ganoderma</i> triterpenoids against oxidative damage induced by tert-butyl hydroperoxide in human hepatic HepG2 cells</p> <p>(Jian <i>et al.</i>, 2016)</p>	<p>Cuerpos fructíferos secos de <i>G. lucidum</i> se pulverizaron finamente en polvo ultrafino y se extrajeron con etanol al 95% por extracción circulatoria ultrasónica.</p>	<p>1) Ensayo de MTT para la citotoxicidad de t-BHP y concentración máxima no citotóxica de TGs:</p> <p>Las células se trataron con concentraciones de triterpenoides de <i>G. lucidum</i> (TGs) (50, 100, 200, 400, 800 y 1200 mg / ml).</p> <p>2) El efecto citoprotector de TGs</p> <p>Las células HepG2 se pre incubaron con TGs en diferentes concentraciones (50, 100 y 200 mg/ml) durante 4 h.</p>	<p>1) La viabilidad celular relativa fue de 103,27% en HepG2 después del tratamiento con 200 mg/ml de TGs. Las células HepG2 fueron bien toleradas para el tratamiento de TGs sin mostrar ninguna citotoxicidad. La viabilidad celular relativa disminuyó evidentemente con concentraciones crecientes (400 mg/ml) de TGs.</p> <p>2) El pretratamiento con GTs (50, 100 y 200 mg/ml) mejoró significativamente la viabilidad celular relativa en un 4,66%, 7,78% y 13,46%.</p> <p>Los TGs podrían mejorar el daño oxidativo inducido por t-BHP en células HepG2.</p> <p>Los TGs podrían servir como un potente agente hepatoprotector en las industrias de suplementos alimenticios, farmacéuticos y médicos.</p>
<p>Toxicology and immunology of <i>Ganoderma lucidum</i> polysaccharides in Kunming mice and Wistar rats</p> <p>(Zhang <i>et al.</i>, 2016)</p>	<p>Polisacáridos en polvo del cuerpo fructífero de <i>G. lucidum</i> (GPs). Los GPs se lavaron 3 veces con etanol al 85% y se liofilizaron.</p>	<p>Toxicidad aguda: Los ratones se dividieron en dos grupos (hembra y macho) cada grupo con tres dosis diferentes (500, 2500 y 5000 mg/kg pc) y un grupo de control.</p>	<p>Toxicidad aguda: Los ratones no mostraron signos clínicos de toxicidad (irritación, inquietud, dificultad respiratoria, locomoción anormal y catalepsia) durante y después del tratamiento, incluso a dosis de hasta 5000 mg / kg, indicando que los GPs son una sustancia no tóxica.</p>

Toxicidad subcrónica: 80 ratas Wistar (40 machos y 40 hembras). Tres grupos de dosis (2, 4 y 8 g/kg pc) y un grupo control cada uno (total 8 grupos y 10 ratas isosexuales en cada grupo).

Toxicidad genética: 8 grupos de ratas con dosis de 250 a 5000 µg/ placa

Toxicidad subcrónica: No se observó ninguna anomalía significativa respecto al peso corporal y alimentación. Para la hematología, de acuerdo a los niveles de hemoglobina los machos toleran altas concentraciones de GP en comparación a las hembras.

Para la bioquímica del suero, todos los exámenes bioquímicos se observaron dentro del rango normal excepto los niveles de glucosa.

Toxicidad genética:

Prueba Ames: Los GPs no presentan efectos mutagénicos in vitro.

Nota: Elaborada por el autor

1.10. *Ganoderma lucidum* en relación a enfermedades hepáticas

La relación entre la obesidad y enfermedades como la hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, cáncer y ECV ocasionan alteraciones metabólicas derivadas por el exceso de grasa e incapacidad del tejido adiposo de almacenarlas en el cuerpo. El hígado es uno de los órganos principales que se ve afectado, las enfermedades hepáticas son comunes y en su mayoría silenciosas. Las entidades asociadas a daño hepático incluyen las enfermedades virales, la esteatohepatitis no alcohólica y el exceso de alcohol, entre otras. Asimismo, la creciente prevalencia de la obesidad incrementa las enfermedades del hígado (Damaso *et al.*, 2008).

La enfermedad hepática puede clasificarse en dos categorías de acuerdo al daño: necrosis celular y colestasis. La necrosis celular puede ser aguda o crónica. La elevación de las aminotransferasas (valores mayores de 10 veces los límites de referencia) (**Tabla 17**), son indicativo de necrosis celular aguda, mientras que elevaciones menos marcadas (menos de 7 veces los límites de referencia) indican necrosis celular crónica (Dufour *et al.*, 2000). La colestasis resulta de un flujo biliar disminuido o ausente (Burke, 1975). Se presentan dos casos de colestasis, extrahepática e intrahepática. La colestasis extrahepática es dada cuando los niveles de bilirrubina sérica como de fosfatasa alcalina aumentan, por falla de excreción e

incremento en su síntesis. La colestasis intrahepática se desarrolla cuando la fosfatasa alcalina aumenta por la misma colestasis, y la bilirrubina se mantiene dentro de los límites normales (Burke, 1975) (**Tabla 18**).

Tabla 17. Valores de referencia en perfil hepático humano

Parámetro en plasma	Valores de Referencia
	Óptimo
GPT o ALT (Alanino aminotransferasa)	Entre 0-35 U/L
GOT o AST (Aspartato aminotransferasa)	Entre 0-35 U/L
GGT (Gamma-glutamil transpeptidasa)	Entre 8-78 U/L
ALP o FAL (Fosfatasa Alcalina)	Entre 36 y 92 U/L
Proteínas totales	Entre 6-7,8 g/dL
ALB (Albúmina)	Entre 3,5-5,5 g/dl
PT (Tiempo de protrombina)	Entre 11–13 seg
TBIL (Bilirrubina total)	Entre 0,3–1,2 mg/dL

Fuente: Wians (s.f.).

Tabla 18. Principales causas de enfermedad hepática

Necrosis celular	Colestasis
Aguda	Intrahepática
<ul style="list-style-type: none"> • Hepatitis viral • Hepatitis tóxica • Hepatitis alcohólica • Necrosis isquémica 	<ul style="list-style-type: none"> • Difusa (inducida por medicamentos, o por cirrosis biliar primaria) • Focal (por tumor metastásico, granuloma o colestiasis Intrahepática)
Crónica	Extrahepática
<ul style="list-style-type: none"> • Hepatitis crónica activa • Hepatitis autoinmune • Cirrosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cálculo • Tumor

Fuente: Dufour *et al.* (2000).

1.11. Marcadores en plasma y orina por daño hepático

1.11.1 Marcadores en plasma

El hígado es uno de los órganos más importantes debido a las actividades metabólicas y funciones bioquímicas, de síntesis y excreción (Martín & Molina, s.f.). La detección oportuna de daño hepático requiere de pruebas específicas de función hepática que determinen la severidad y posteriormente un diagnóstico que monitorice el curso de la enfermedad (Fernández *et al.*, 2008).

La hepatotoxicidad se define como la lesión o daño hepático causado por la exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. Para el análisis de hepatotoxicidad las transaminasas alanino aminotransferasa (ALT, citoplasmática) y la aspartato aminotransferasa (AST, citoplasmática y mitocondrial) son excelentes marcadores ante las anomalías o daño en el hígado debido a su localización intracelular, ya que las concentraciones de ALT aumentan cuando las células hepáticas están dañadas o están muriendo, es decir, a concentraciones altas de ALT, incrementa la muerte celular o inflamación del hígado; asimismo un aumento de AST ocasiona un daño más profundo y severo (Lee,1993). Se han detectado al menos 60 reacciones de transaminación en el hígado, sin embargo, las únicas transaminasas con valor clínico son la ALT y AST. Ambas aminotransferasas están normalmente presentes en el suero en bajas concentraciones (Pratt & Kaplan, 2002). No obstante, existen diferentes factores que pueden alterar la actividad ALT y AST además del daño hepático (**Tabla 19**).

Tabla 19. Factores que alteran ALT y AST

Factor	AST o GOT	ALT o GPT	Observaciones
Momento del día		45% de variación durante el día; máximo por la tarde, mínimo por la noche.	No hay variación significativa entre las 9 de la mañana y las 9 de la noche; similar en enfermo hepático y sujeto sano.
Variación entre días	5-10% de variación entre un día y el siguiente.	10-30% de variación.	Similar en el enfermo hepático y sujeto sano; y entre joven y anciano.
Índice de masa corporal (IMC)	40-50% mayor con IMC alto.	40-50% mayor con IMC alto	Relación directa entre el peso y GOT y GPT

Ejercicio	Incrementa 3 veces con ejercicio intenso.	20% menor en los que hacen ejercicio normal respecto a no ejercicio o ejercicio extenuante.	Las enzimas aumentan más con el entrenamiento intenso.
Hemólisis, anemia hemolítica	Incremento significativo	Incremento moderado	Depende del grado de hemólisis; generalmente, varias veces menor que la elevación de LDH.
Daño muscular	Incremento significativo	Incremento moderado	Relacionado con el grado de la elevación de la CK.

Fuente: Cuadrado, & Crespo. (2004).

Existen otros parámetros que contribuyen a un mejor diagnóstico y análisis del estado del hígado. Es necesario realizar diferentes test de función hepática (TFH) que incluyan los parámetros bioquímicos como ALT, AST, gamma glutaril transpeptidasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), bilirrubina, albúmina y actividad de protrombina (Knight, 2002).

Las pruebas que evalúan el daño hepático se dividen en: pruebas indicadoras de necrosis y colestasis, pruebas metabólicas y de síntesis proteica, pruebas inmunológicas y marcadores genéticos. En esta investigación solo se explicará a profundidad los indicadores relacionados con necrosis, colestasis y metabolismo (**Tabla 20**).

Tabla 20. Indicadores en pruebas de daño hepático

Tipo de prueba	Indicadores	Descripción
Indicador de necrosis	Transaminasas (ALT y AST)	En presencia de daño en la membrana celular del hepatocito, ALT y AST aumentan su concentración, catalizan la transferencia de grupos aminos para producir ácido pirúvico y oxaloacético utilizando vitamina B6 como cofactor. ALT (solo en hígado) es más específica que AST, ya que ésta se encuentra en hígado, músculo esquelético y cardiaco, en riñón y eritrocitos. Indicadores más sensibles de necrosis celular (mayor de 10 veces los valores de referencia).
	Deshidrogenasa láctica (LDH)	Enzima que se encuentra en el citoplasma de los hepatocitos, cataliza la oxidación reversible de ácido láctico a ácido pirúvico. Valores marcadamente elevados (más de 100 veces los valores normales) de AST y ALT, acompañados de incrementos comparables de la LDH sugieren necrosis isquémica.
	Fosfatasa alcalina	Se encuentra en el hígado, huesos, riñón, intestino y placenta. Marcador de disfunción biliar. Un

Indicador de colestasis		predominio de fosfatasa alcalina (3 a 10 veces los valores normales) sobre ALT y AST (menos de 10 veces los valores normales), favorece el diagnóstico de colestasis, sobre todo si se acompaña de aumento de la bilirrubina total y de la directa
	Gamma-glutamil transferasa (GGT)	Regula el transporte de aminoácidos a través de las membranas celulares. Catalizan la transferencia de un grupo glutamil a los aminoácidos libres. Proviene exclusivamente del hígado.
Metabolismo	Bilirrubina	Principal metabolito del grupo hemo de la hemoglobina, mioglobina y citocromos. Es transportada unida a la albúmina (directa o conjugada). Una relación de la bilirrubina directa/bilirrubina total entre 20% y 40% apoya la existencia de necrosis hepatocelular más que una obstrucción extrahepática o alteraciones del metabolismo de la bilirrubina
Evaluación de síntesis proteica	Albúmina	Principal proteína producida por el hígado. Se altera ante daño hepático y pérdida de proteínas. Transporta sustancias endógenas (bilirrubina y hormonas tiroideas), y sustancias exógenas (fármacos).
	Tiempo de protrombina (TP)	Detecta anormalidades en la coagulación asociado a daño hepático. Importante para indicar la severidad de la enfermedad. Mejor indicador de severidad de daño hepático celular; un TP mayor de 3 segundos por encima del límite superior de referencia indica daño hepático severo.

Adaptado de Fernández *et al.*, 2008.

La interpretación de resultados de las pruebas mencionadas se debe realizar de manera correcta, ya sea en pacientes sintomáticos como asintomáticos. Los resultados normales no excluyen con total seguridad la existencia de patología hepática ya que los parámetros incluidos en dichas pruebas no son órgano-específicos. Por tanto, una adecuada interpretación de los resultados siempre debe ir precedida de una rigurosa historia clínica del paciente (Moreno *et al.*, 2007).

1.11.2. Marcadores en orina

El riñón realiza funciones de excreción, regulación y endocrinas para mantener la homeostasis del agua y de los solutos. Las primeras dos funciones llevan a cabo procesos de filtración glomerular, reabsorción y secreción tubular. La función excretora se encarga de la eliminación de productos tóxicos del metabolismo y productos ingeridos en exceso con la dieta, principalmente urea, creatinina, ácido úrico, sales y minerales, así como de sustancias químicas, fármacos, pesticidas, aditivos alimenticios entre otros. Para la función reguladora, el riñón mantiene la homeostasis de sodio, cloro, glucosa, aminoácidos e incluso de la presión arterial mediante mecanismos tubulares y otros; la función endocrina es realizada por diferentes partes del riñón (Rodríguez *et al.*, 2010).

Para la evaluación del funcionamiento correcto del riñón los compuestos eliminados de mayor importancia en un día son la urea (15-25 g), creatinina (800-1500 mg, según la masa muscular), sodio (3-6g), potasio (2-3g), cloro (5-10g), calcio (150-250mg) y fósforo (400 mg-1g). En condiciones normales, la orina no contiene proteínas y presenta una osmolaridad y un pH que varían según las diversas situaciones fisiológicas. Por lo que, ante cualquier anomalía en el riñón los biomarcadores convencionales para detectar daño y toxicidad renal son la razón albúmina/creatinina urinaria (RAC), proteinuria, glucosuria, hematuria, cilindros celulares (indicadores tardíos de lesión tubular), bacteriuria (presencia de bacteria), cristalluria (presencia de cristales) (Rodríguez *et al.*, 2010). Sin embargo, la aplicación de la genómica y la proteómica en modelos humanos y animales han permitido el desarrollo de nuevos biomarcadores especializados para detectar la lesión renal, tales como la nipoalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (NAG), KIM-1, cistatina-C, IL-18, L-FABP entre otros (**Figura 15 y Tabla 21**) (Barreto & Guevara, 2013).

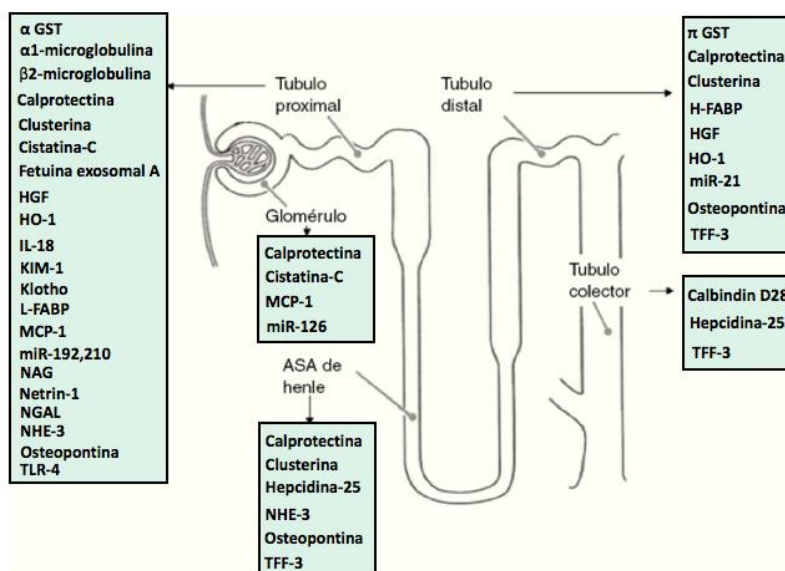


Figura 15. Biomarcadores de lesión renal según su localización y sitio de expresión en los diferentes segmentos de la nefrona. (Adaptado de Barreto & Guevara, 2013).

Tabla 21. Nuevos biomarcadores de lesión renal

Biomarcador	Tipo de muestra	Lugar de expresión	Descripción general
NGAL	Plasma/Orina	T. Proximales > T. Distales, PMN, Cél Epit.	Proteína que se expresa a muy bajas concentraciones en el riñón (nefrona distal), pulmón y tracto gastrointestinal. Ante una agresión isquémica o tóxica de las células epiteliales del túbulo renal, se induce de forma precoz el incremento de creatinina en suero.
IL-18	Orina	T. Proximales, Fibroblastos, Cél Dendríticas, Intestinal, Corteza Adrenal	Citoquina proinflamatoria procedente de las células epiteliales tubulares proximales. Su cuantificación en orina no se ve afectada por procesos infecciosos urinarios, trastornos renales crónicos o síndrome nefrótico..
KIM-1	Orina	Túbulos Proximales	Glicoproteína transmembranal que se expresa selectivamente ante la agresión isquémica o nefrotóxica, aguda o crónica, de las células tubulares proximales donde facilita la regeneración tubular mediante la eliminación de las células muertas. Se cuantifica exclusivamente en orina, donde su concentración está fuertemente relacionada con su expresión tubular.
Cys-C	Plasma/Orina	Células Nucleadas	Proteína de bajo peso molecular que se sintetiza en todas las células nucleadas, se filtra libremente por el glomérulo, se reabsorbe y cataboliza totalmente a nivel del túbulo proximal.

Adaptado de Monsalud & Díaz. (2013).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El panorama alimentario y nutricional en México se ha complicado debido a la transición epidemiológica actual. En el país existe una alimentación crónicamente insuficiente debido a la disponibilidad abundante de alimentos, menor actividad física y cambios indeseables en las costumbres alimentarias, factores que han favorecido el aumento de la obesidad y sobrepeso, así como el desarrollo de otras enfermedades crónicas como las ECV que son ocasionadas por alteraciones en el metabolismo de lípidos y colesterol. Por tanto, es importante desarrollar estrategias para contrarrestar las alteraciones en los procesos fisiológicos asociadas a la malnutrición. En este contexto, los beneficios de los extractos de *Ganoderma lucidum* se han mostrado en modelos *in vivo* denotando sus propiedades funcionales y prebióticas que actúan sobre el metabolismo de colesterol disminuyendo el riesgo de padecer diversas patologías. No obstante, no existen estudios que evalúen la toxicidad aguda del producto biotecnológico y mexicano de *G. lucidum*, y la escasa información existente que hay a nivel internacional es de especies extranjeras y no puede extrapolarse a las especies mexicanas debido a las diferentes condiciones de crecimiento que modifican las propiedades y contenido del extracto. En consecuencia, es necesario realizar un estudio de toxicidad oral aguda en roedores para tener la información necesaria y poder realizar de manera segura estudios de intervención del consumo de extractos de *G. lucidum* en humanos con hipercolesterolemia y contribuir al tratamiento de las enfermedades cardiovasculares.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, gran parte de la población está interesada en conocer más sobre las propiedades, beneficios y efectos de los alimentos funcionales y nutraceuticos. El hongo medicinal *Ganoderma lucidum* considerado como un alimento nutraceutico tiene diversas propiedades funcionales, ya que presenta compuestos bioactivos como terpenoides, polisacáridos y proteínas que muestran efectos positivos a la salud. *G. lucidum* tiene efectos antihiperglucemiantes, hipolipemiantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, entre otros. Existe poca información sobre pruebas de toxicidad aguda de los extractos de este hongo, gran parte de la información proviene de estudios realizados en Asia, en los cuales no existe uniformidad en los tipos de extractos a probar debido a que son extractos comerciales, y muchas veces no se define de forma clara la obtención de los mismos. Además, en México no existe información sobre la toxicidad de cepas mexicanas de *G. lucidum*. Por tanto, la presente investigación se enfocará en estudiar la toxicidad del extracto de origen mexicano de *G. lucidum* en ratas Wistar en base al protocolo 423 validado por la OECD para que en futuros proyectos los extractos puedan utilizarse en pruebas clínicas en pacientes con hipercolesterolemia, el cual es un factor de riesgo importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

4. HIPÓTESIS

La administración aguda oral de las diferentes dosis del extracto del hongo medicinal *Ganoderma lucidum* (300, 1000, 2000, 5000 mg/kg peso) durante 14 días no causa daño en la función hepática y renal, ni mortalidad en los grupos de ratas Wistar.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la ingesta aguda del extracto del hongo medicinal mexicano *G. lucidum* en función hepática y renal en ratas Wistar de acuerdo al protocolo no. 423 de la OECD/OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico).

5.2. Objetivos específicos

Analizar la seguridad del consumo de diferentes dosis (300, 1000, 2000, 5000 mg/kg peso) del extracto de *G. lucidum* mediante la observación de cambios de peso e ingesta en ratas Wistar durante 14 días.

Examinar la seguridad del consumo de diferentes dosis del extracto de *G. lucidum* mediante la observación de cambios de comportamiento y físicos por medio del análisis de una tabla de signos indicativos dados por el protocolo no. 423 de la OECD/OCDE en ratas Wistar durante 14 días.

Analizar la seguridad del consumo de diferentes dosis (300, 1000, 2000, 5000 mg/kg peso) del extracto de *G. lucidum* durante 14 días en parámetros de plasma asociados a daño hepático (AST, ALT), así como de otros parámetros (colesterol total, HDL-C, LDL-C, triglicéridos, glucosa, proteína C reactiva, creatinina, albúmina y urea).

Analizar la seguridad del consumo de diferentes dosis (300, 1000, 2000, 5000 mg/kg peso) del extracto de *G. lucidum* durante 14 días en parámetros de orina asociados a daño renal (glucosa, nitrógeno ureico, albúmina y creatinina).

Analizar la seguridad del consumo de diferentes dosis (300, 1000, 2000, 5000 mg/kg peso) del extracto de *G. lucidum* durante 14 días en tejido hepático y renal mediante el estudio histológico.

6. ALCANCES Y LIMITACIONES

6.1. Alcances

El proyecto en desarrollo tiene como alcance aplicar el protocolo no.423 de la OECD/OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico) para analizar la toxicidad aguda de los extractos del hongo *G. lucidum*, con la finalidad de generar información científica valiosa sobre la seguridad de su consumo, y poder definir las dosis a emplear en estudios de intervención en humanos.

6.2. Limitaciones

La presente investigación está limitada al número de muertes por grupo de experimentación, que de acuerdo al protocolo no.423 de la OECD/OCDE para evaluar la toxicidad del extracto, si el primer animal dosificado muere, entonces la dosificación se disminuye, pero si el primer animal sobrevive, se dosifican otros dos animales. Por tanto, el número máximo de muertes por grupo de experimentación es de dos ratas, de ser el caso, se detendría totalmente la evaluación de la toxicidad.

7. METODOLOGÍA

7.1. Animales

Tomando en cuenta los principios básicos de las tres “R’s”, reemplazo, reducción y refinamiento para estudios pre-clínicos en animales, y bajo las recomendaciones del protocolo de la OECD, se utilizaron 30 ratas Wistar (15 hembras y 15 machos) entre 8-12 semanas de edad, con un peso entre 150-200 g obtenidos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se formaron 5 grupos experimentales con 6 ratas (3 machos y 3 hembras) cada uno. Los animales se alojaron en una habitación mantenida a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, con una humedad relativa de 45%-55% y ciclos de luz artificial de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las ratas se alimentaron con la dieta convencional de laboratorio (LabDiet 5001 Rodent Diet) y agua *ad libitum* y se mantuvieron en cajas individuales. Los animales tuvieron un ayuno de 8 horas sin restricción de agua, posterior al ayuno se alimentaron con las dietas experimentales en un horario establecido por la noche se mantuvieron con 30 g de dieta convencional (**Tabla 22, 23 y Figura 16**). La ingesta de alimentos se registró diariamente y se pesaron cada tercer día una vez iniciado el estudio. Se observaron de forma individual después de la dosificación y se registraron los cambios físicos y de comportamiento acorde a los formatos establecidos durante 14 días. La aprobación de este experimento fue emitida por el Comité de Investigación Animal INCMNSZ en la Ciudad de México (Número de permiso: FNU-1180-15/16-1).

Tabla 22. Formulación de la dieta AIN93

Ingrediente	Dieta g/kg
Cistina	3.00
Colina	2.50
Vitaminas	10.00
Celulosa	50.00
Minerales	35.00
Aceite de soya	70.00
Almidón	397.50
Dextrina	132.00
Sacarosa	100.00
Caseína	200.00

Fuente: Reeves (2011).

Tabla 23. Dietas experimentales con dieta base (AIN93) más extracto hidroalcohólico de *Ganoderma lucidum* al 32%

Dosis	mg extracto/día por 200 g peso corporal	ml/extracto diario	Peso promedio de pellet hembras (g)	Peso promedio de pellet machos (g)
Control	0	0	12	12
300 mg/kg peso	60	1.30	11.16	15.16
1000 mg/kg peso	200	4.32	13.03	17.1
2000 mg/kg peso	400	8.65	11	15.3
5000 mg/kg peso	1000	21.61	11	14.83

Nota: Para la elaboración de pellets se agregó el extracto de *G. lucidum* a la dieta AIN93



Figura 16. Elaboración de dietas experimentales con con dieta base (AIN93) más extracto hidroalcohólico de *Ganoderma lucidum* al 32%.

7.2. Diseño experimental

Los animales recibieron diferentes dosis de los extractos de *G. lucidum* durante 14 días acorde a los 5 siguientes grupos de experimentación:

Grupo 1 (Grupo Control): Los animales de este grupo consumieron la dieta estándar de acuerdo a las recomendaciones de AIN93 sin el consumo del extracto de *G. lucidum*.

Grupo 2 (Dosis 300 mg/kg peso): Los animales de este grupo consumieron la dieta estándar de acuerdo a las recomendaciones de AIN93, más una dosis única diaria de 300 mg/kg peso del extracto de *G. lucidum* por vía oral.

Grupo 3 (Dosis 1000 mg/kg peso): Los animales de este grupo consumieron la dieta estándar de acuerdo a las recomendaciones de AIN93, más una dosis única diaria de 1000 mg/kg peso del extracto de *G. lucidum* por vía oral.

Grupo 4 (Dosis 2000 mg/kg peso): Los animales de este grupo consumieron la dieta estándar de acuerdo a las recomendaciones de AIN93, más una dosis única diaria de 2000 mg/kg peso del extracto de *G. lucidum* por vía oral.

Grupo 5 (Dosis 5000 mg/kg peso): Los animales de este grupo consumieron la dieta estándar de acuerdo a las recomendaciones de AIN93, más una dosis única diaria de 5000 mg/kg peso del extracto de *G. lucidum* por vía oral.

Al término del estudio, se recogieron muestras de orina en cajas metabólicas 48 horas previas al sacrificio. Asimismo, los animales fueron privados de alimento 12 horas antes de la eutanasia. Una vez sacrificados se tomaron las muestras de suero, hígado y riñón. Los órganos se extirparon y congelaron en N₂ líquido y se almacenaron a -70°C. Para la conservación de los órganos se realizaron soluciones de formalina 10% y solución salina 9%. La aprobación de este experimento fue emitida por el Comité de Investigación Animal INCMNSZ en la Ciudad de México (Número de permiso: FNU-1180-15/16-1).

7.3. Prueba de toxicidad aguda

Se realizó la prueba de toxicidad aguda acorde al protocolo 423 de la OECD/OCDE. Se utilizaron dosis orales crecientes del extracto de *G. lucidum* (300, 1000, 2000 y 5000 mg/kg de peso corporal). El grupo control fue alimentado con la dieta AIN93. Se registraron los signos recomendados por el protocolo ante los posibles cambios físicos y de comportamiento durante 14 días (**Figura 17**).



Figura 17. Pesaje de ratas hembras y machos durante el estudio.

7.4. Parámetros bioquímicos del suero

El suero se obtuvo por centrifugación a 1000 g durante 10 min y se almacenó a -70°C hasta su análisis. Se midieron las concentraciones séricas de colesterol total (CT), triglicéridos totales (TG), colesterol lipoproteico de baja densidad (LDL-C), glucosa, proteína C reactiva, creatinina, urea, alanina transaminasa (ALT), aspartame transaminasa (AST) y albúmina utilizando el analizador COBAS C111 (Roche Diagnostics Ltd., Suiza).

7.5. Parámetros bioquímicos de orina

La orina se obtuvo de cajas metabólicas 48 horas antes de la eutanasia. Se midieron las concentraciones de glucosa, nitrógeno uréico, creatinina y albúmina. Las muestras fueron analizadas por un laboratorio certificado por NMX-CC-9001-IMNC-2008/ISO 9001:2008, ubicado en México, Distrito Federal.

7.6. Histologías del hígado y riñón

En la **Figura 18** se detalla el procedimiento para la preparación de tejidos y tinción de muestras:

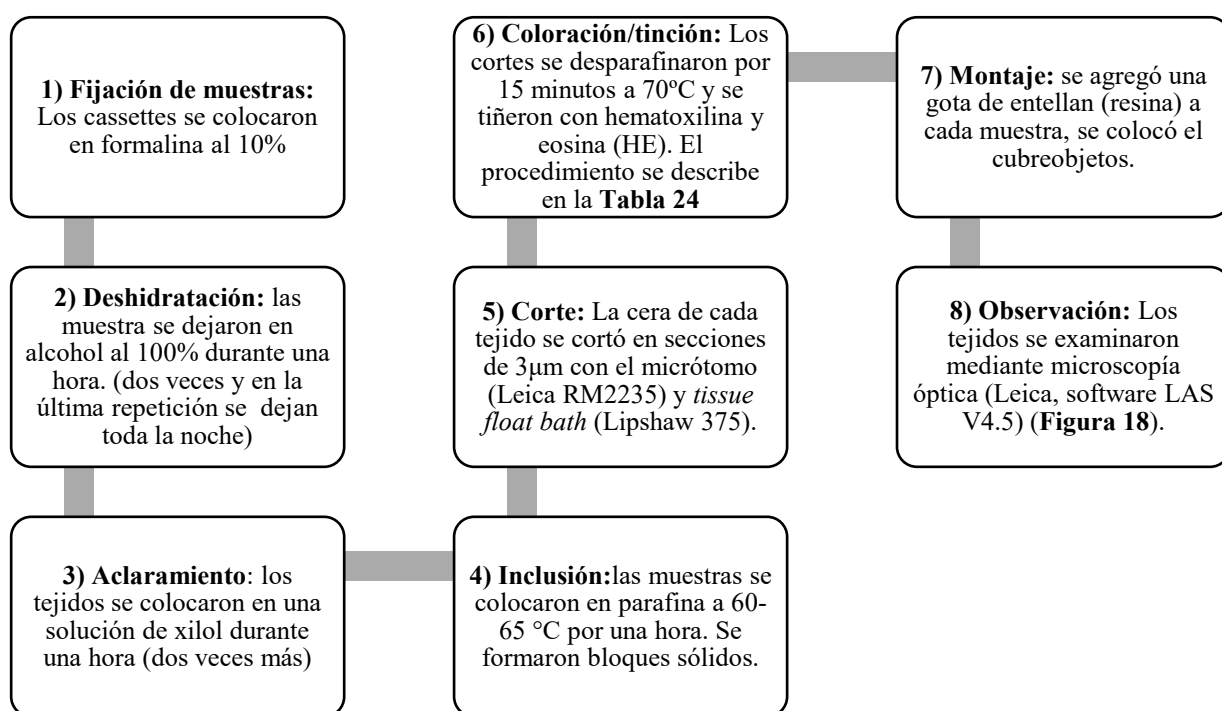


Figura 18. Proceso para la preparación y tinción de tejidos

Tabla 24. Tren de deshidratación para muestras de hígado y riñón

Orden	Reactivo
1	Xilol I (10 lavados)
2	Xilol II (10 lavados)
3	Xilol III Etanol 100%/ Xilol 50%/ Etanol 50% (10 lavados)
4	Etanol 100% (10 lavados)
5	Alcohol 96% (10 lavados)
6	H ₂ O (10 lavados, reposar 10 min)
7	Teñir con hematoxilina de Harris (5 min)
8	10 baños en alcohol ácido 1% (990 H ₂ O +10 ml ácido clorhídrico)
9	Carbonato de litio (10 lavados)
10	Alcohol 96% (10 lavados)
11	Eosina alcohólica (6 lavados)
12	Alcohol 96% (10 lavados)
13	Alcohol absoluto (10 lavados)
14	Alcohol absoluto (10 lavados)
15	Alcohol absoluto 50% + xilol 50% (10 lavados)
16	Deshidratación
17	Aclaración (xilol I, II, III; 10 lavados con cada uno)



Figura 19. Procedimiento de histologías de hígado y riñón.

7.7. Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media \pm SEM. El significado estadístico se determinó mediante ANOVA unidireccional (prueba post test de Tukey), según corresponda, utilizando un software estadístico GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Los datos experimentales fueron considerados significativos con $p < 0,05$. La comparación de múltiples grupos se realizó usando el análisis de varianza ANOVA de dos vías, seguida del post test de Tukey.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Efectos del extracto de *Ganoderma lucidum* en el comportamiento y cambios físicos en ratas

Durante el estudio las ratas machos no presentaron cambios en la apariencia física ni cambios en los parámetros generales. Se observaron cambios en el comportamiento no provocado como la hiperactividad. El grupo experimental de la dosis de 300 mg/kg peso presentó mayor hiperactividad comparado con el grupo control (**Tabla 25**).

Tabla 25. Análisis en los cambios físicos y de comportamiento en ratas machos durante el estudio

Dosis experimentales	Ctrl	300 mg/kg peso	1000mg/kg peso	2000 mg/kg peso	5000 mg/kg peso
Inhabilidad para alcanzar la comida	X	X	X	X	X
Inhabilidad para alcanzar el agua	X	X	X	X	X
Menor consumo de alimentos	X	X	X	X	X
Vocalización	X	X	X	X	X
Alteraciones físicas	X	X	X	X	X
Cambio en la movilidad	X	□	X	X	□
Cambio en la locomoción	X	X	X	X	X
Cambios en la apariencia física					
Pelo sucio con orina o heces	X	X	X	X	X
Caída de pelo	X	X	X	X	X
Cambios en el comportamiento no provocado					
Hiperactividad	□	□ □ □	□	□ □	□ □
Automutilación	X	X	X	X	X
Agresividad anormal	X	X	X	X	X
Comportamiento compulsivo	X	X	X	X	X
Cambios de comportamiento en respuesta a estímulos externos					
Exitabilidad	X	X	X	X	X
Reflejo de enderezamiento	X	X	X	X	X
Cambios en los parámetros generales					
Cambios en el ritmo respiratorio	X	X	X	X	X
Deshidratación severa	X	X	X	X	X
Hemorragias	X	X	X	X	X
Incapacidad para mantenerse en posición vertical	X	X	X	X	X
Convulsiones	X	X	X	X	X
Diarrea	X	X	X	X	X
Disminución prolongada y sostenida de la temperatura corporal	X	X	X	X	X
Tumores sustanciales	X	X	X	X	X
Postración	X	X	X	X	X
Temblor	X	X	X	X	X
Postura anormal	X	X	X	X	X
Heridas abiertas o ulceración de la piel	X	X	X	X	X
Salivación	X	X	X	X	X
Letargo	X	X	X	X	X
Sueño	X	X	X	X	X
Cambio en las membranas mucosas	X	X	X	X	X
Cambio de coloración en piel terminal, nariz, orejas o patas	X	X	X	X	X

Nota: X: no se observaron cambios en las variables.; ✓: ✓: leve; ✓✓: moderado. ✓✓✓: alto.

En el caso de las hembras, no se observaron cambios en los parámetros generales ni cambios físicos. El grupo experimental de dosis de 5000 mg/kg peso mostró mayor hiperactividad que el grupo control, asimismo las ratas hembras presentaron mayor movilidad al compararse con los machos (Tabla 26).

Tabla 26. Análisis en los cambios físicos y de comportamiento en ratas hembras durante el estudio

Dosis experimentales	Ctrl	300 mg/kg peso	1000mg/kg peso	2000 mg/kg peso	5000 mg/kg peso
Inhabilidad para alcanzar la comida	X	X	X	X	X
Inhabilidad para alcanzar el agua	X	X	X	X	X
Menor consumo de alimentos	X	X	X	X	X
Vocalización	X	X	X	X	X
Alteraciones físicas	X	X	X	X	X
Cambio en la movilidad	□	□	□	X	□
Cambio en la locomoción	X	X	X	X	X
Cambios en la apariencia física					
Pelo sucio con orina o heces	X	X	X	X	X
Caída de pelo	X	X	X	X	X
Cambios en el comportamiento no provocado					
Hiperactividad	□ □	□ □	□ □	□	□ □ □
Automutilación	X	X	X	X	X
Agresividad anormal	X	X	X	X	X
Comportamiento compulsivo	X	X	X	X	X
Cambios de comportamiento en respuesta a estímulos externos					
Exitabilidad	X	X	X	X	X
Reflejo de enderezamiento	X	X	X	X	X
Cambios en los parámetros generales					
Cambios en el ritmo respiratorio	X	X	X	X	X
Deshidratación severa	X	X	X	X	X
Hemorragias	X	X	X	X	X
Incapacidad para mantenerse en posición vertical	X	X	X	X	X
Convulsiones	X	X	X	X	X
Diarrea	X	X	X	X	X
Disminución prolongada y sostenida de la temperatura corporal	X	X	X	X	X
Tumores sustanciales	X	X	X	X	X
Postración	X	X	X	X	X
Temblor	X	X	X	X	X
Postura anormal	X	X	X	X	X
Heridas abiertas o ulceración de la piel	X	X	X	X	X
Salivación	X	X	X	X	X
Letargo	X	X	X	X	X
Sueño	X	X	X	X	X
Cambio en las membranas mucosas	X	X	X	X	X
Cambio de coloración en piel terminal, nariz, orejas o patas	X	X	X	X	X

Nota: X: no se observaron cambios en las variables.; ✓: leve; ✓✓: moderado. ✓✓✓: alto.

En roedores los indicadores importantes del dolor son el quedarse acostado, cambios en el pelaje y en el brillo de los ojos, así como una disminución o aumento de la actividad física, cambios en el temperamento, nervosidad, disminución en el consumo de alimentos y agua, vocalizaciones anormales, posturas anormales y automutilación (Montgomery, 1990). Un estudio de toxicidad utilizó 70 ratas para investigar la proliferación, metabolismo y la secreción de linfocitos *in vitro* tras la estimulación del polvo de *G. lucidum*. En todos los

grupos experimentales las ratas se encontraron físicamente y mentalmente saludables (Liang *et al.*,2008).

En otro estudio de toxicidad aguda en ratones, se administraron polisacáridos de *G. lucidum* y no se observaron cambios en el comportamiento ni muerte en dosis de 5000 mg/kg peso, por lo que, se consideró una sustancia no tóxica (Li, Zhang & Zhong, 2011). De acuerdo a la literatura, durante el estudio no se observaron signos de dolor ni cambios físicos en las ratas, por lo que, se infiere que los grupos experimentales se mantuvieron sanos. Respecto al comportamiento, las ratas hembras y machos mostraron un ligero aumento en la hiperactividad.

8.2. Efecto de las dietas experimentales con extracto de *Ganoderma lucidum* en el peso corporal y en la ingesta de alimentos en ratas

Las ratas se pesaron cada tercer día durante 14 días. Al comparar el peso inicial y final del estudio tanto machos como hembras aumentaron su peso corporal respecto al tiempo. Durante el estudio no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal de los diferentes grupos experimentales en machos ($p=0.081$) (**Figura 19**) ni entre los grupos experimentales de hembras ($p=0.332$) (**Figura 20**), sin embargo, al comparar la ganancia del peso corporal entre ambos sexos se observan cambios significativos ($p <0.0001$). En el caso de los machos la dosis 2000 mg/kg peso presentó una mayor ganancia de peso (71.33 g) en comparación a los otros grupos (Ctrl (62.33 g), 300 mg/kg peso (67.67 g), 1000 mg/kg peso (70.33 g), 5000 mg/kg peso (68.67 g)). En las hembras el grupo control obtuvo un mayor peso (34.67 g) que los otros grupos experimentales (300 mg/kg peso (31.33g), 1000 mg/kg peso (30.33 g), 2000 mg/kg peso (29.67 g), 5000 mg/kg peso (25 g) (**Figura 21**).

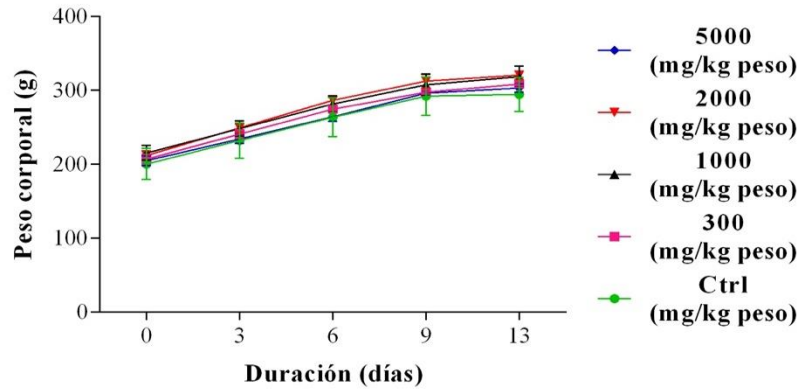


Figura 20. Peso corporal de ratas machos durante el estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

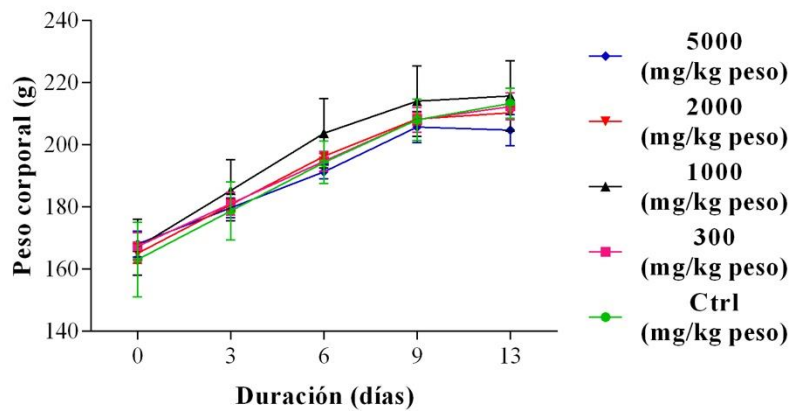


Figura 21. Peso corporal de ratas hembras durante el estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

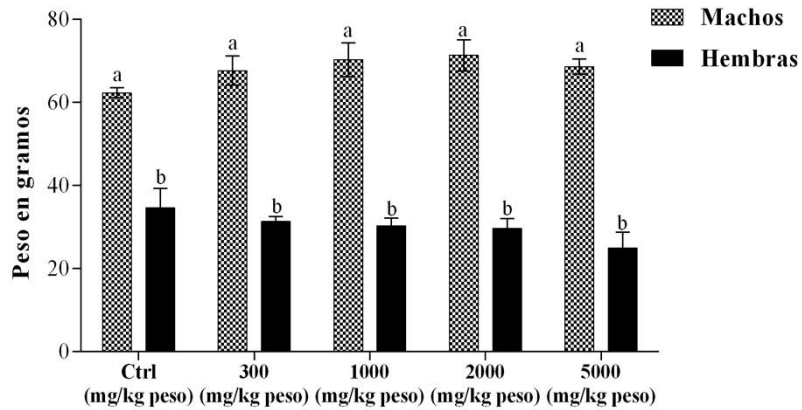


Figura 22. Ganancia de peso corporal de ratas hembras y machos al final del estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de comparación múltiple de Tukey.

Estudios previos han señalado que las hormonas sexuales femeninas incrementan la capacidad termogénica y lipolítica de los adipocitos a diferencia de la testosterona (Roglans, Villa & Laguna, 2007; Monjo *et al.*, 2003). Las ratas hembras presentan una mayor capacidad termogénica, con un contenido de proteína mitocondrial y de termogenina (UCP1) superior que los machos, presentando mayor gasto energético. Por lo que, se observa que el peso corporal en las ratas machos es mayor que en hembras (Roglans, Villa & Laguna, 2007). Liang *et al.* (2008) mencionaron que una dieta acompañada de polvo de *G. lucidum* incrementa ligeramente el peso corporal en ratas. Otro estudio realizado con ratones confirma que el consumo de dosis altas de polisacáridos de *G. lucidum* (>150 mg/kg peso) aumenta el peso corporal en comparación a las dosis bajas (50 mg/kg) (Li, Zhang & Zhong, 2011). Además, Pan *et al.* (2013) mostraron que los cambios de peso corporal de ratones normales y diabéticos tratados durante 8 semanas con FYGL (Fudan-Yueyang- *G. Lucidum*) aumenta conforme al tiempo. Acorde con los resultados obtenidos el incremento del peso corporal es proporcional a las dosis experimentales.

La ingesta diaria de alimentos, fue en promedio de 26.60 g/d en machos y de 18.60 g/d en hembras considerando todas las dosis experimentales durante los 14 días. Con respecto a la ingesta de las ratas machos, se observaron diferencias significativas ($p=0.014$). La ingesta en el grupo de dosis 2000 mg/kg peso (27.75 g/d) fue mayor respecto al control (26.23 g/d) y 5000 mg/kg peso (26.07 g/d) (**Figura 22**).

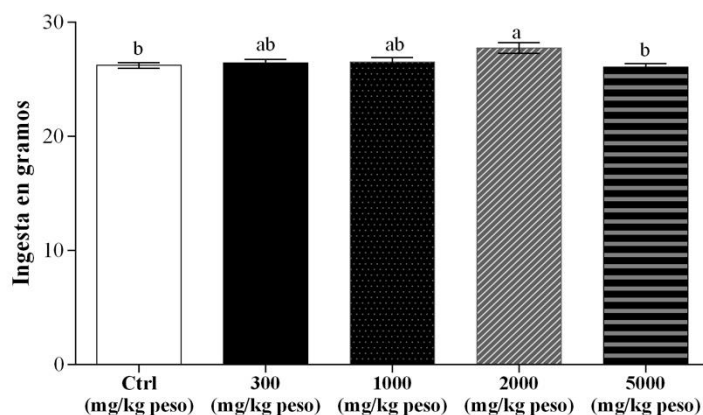


Figura 23. Ingesta de alimentos en ratas machos al final del estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 23** se muestra la ingesta de ratas hembras. Se observaron diferencias significativas entre el grupo control (19.46 g/d) con los grupos de dosis de 300 mg/kg peso (17.92 g/d) y 2000 mg/kg peso (18.06 g/d) ($p=0.001$), existen cambios significativos entre el grupo de la dosis 1000 mg/kg peso (19.30 g/d) respecto al grupo de dosis de 300 y 2000 mg/kg peso.

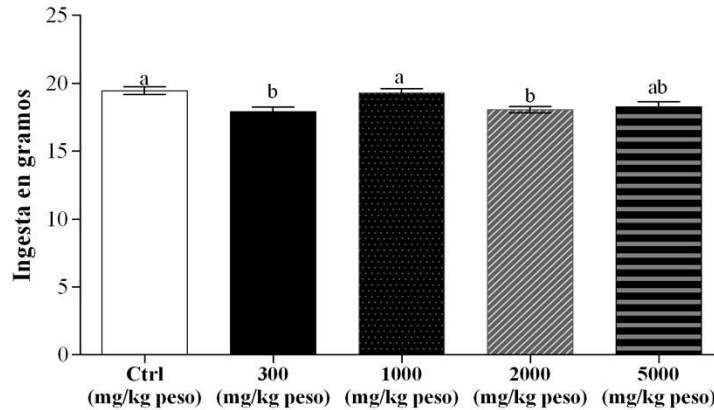


Figura 24. Ingesta de alimentos en ratas hembras al final del estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Se observó mayor ingesta en los grupos de machos que en los de las hembras lo cual es una condición normal por la diferencia de género ($p < 0.0001$) (**Figura 24**).

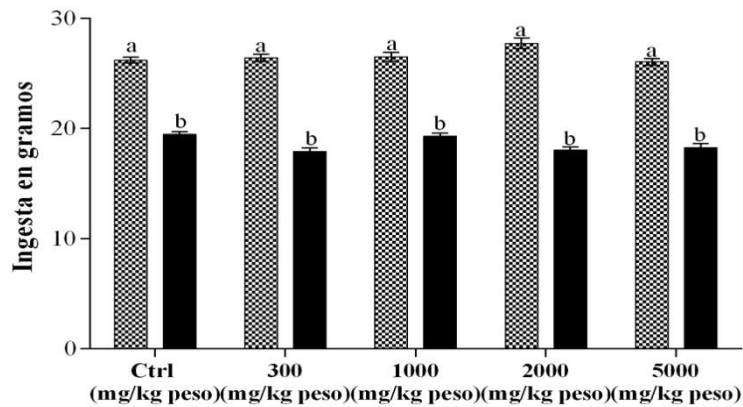


Figura 25. Ingesta de alimentos en ratas hembras y machos al final del estudio. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de comparación múltiple de Tukey.

En ratones se ha observado que durante y después del tratamiento con el extracto de *Ganoderma*, los grupos experimentales consumen ligeramente menos alimento respecto al control (Chiu *et al.*, 2000). En este estudio los resultados obtenidos en la ingesta de alimentos en hembras disminuyen ligeramente de forma dosis dependiente. Un estudio de toxicidad

subcrónica con polisacáridos de *G. lucidum* no mostró cambios significativos en la ingesta de alimentos entre los grupos experimentales respecto al control. La ingesta promedio en machos fue de 27.86 g/d y en hembras fue de 24.28 g/d (Zhang *et al.*, 2016). Acorde a nuestros resultados se infiere que la ingesta de alimentos en hembras y machos no es alterada bajo el consumo del extracto de *G. lucidum*.

8.3. Efecto de las dietas experimentales con extracto de *Ganoderma lucidum* en el peso de hígado y riñón

Las Figuras 25 y 26 muestran gráficamente el efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado de ratas hembras y machos (peso proporcional al peso corporal total). El peso proporcional al peso corporal total promedio de hígado en ratas machos fue de 3.7 y en hembras fue de 3.4. En los machos, la dosis 2000 mg/kg peso (4.010) fue mayor en comparación con los otros grupos experimentales (Ctrl (3.477), 300 mg/kg peso (3.803), 1000 mg/kg peso (3.810), 5000 mg/kg peso (3.833)). En el caso de los pesos de hígado en hembras, la dosis 1000 mg/kg peso presentó un mayor peso comparado con las otras dosis experimentales (Ctrl (3.367), 300 mg/kg peso (3.367), 2000 mg/kg peso (3.133), 5000 mg/kg peso (3.300)). No se observaron diferencias significativas en los machos ($p=0.264$) y hembras ($p=0.119$).

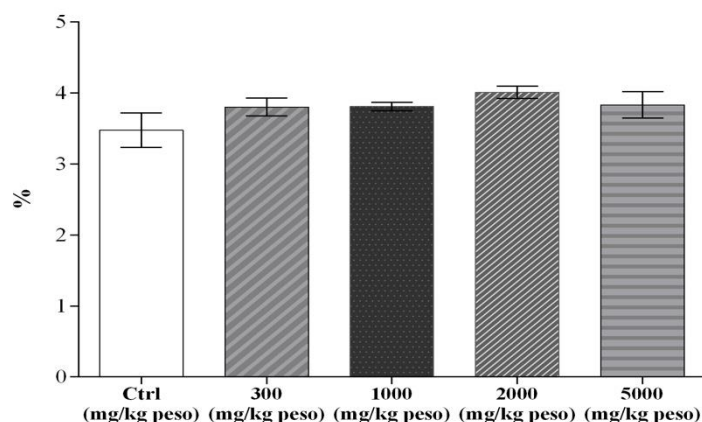


Figura 26. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

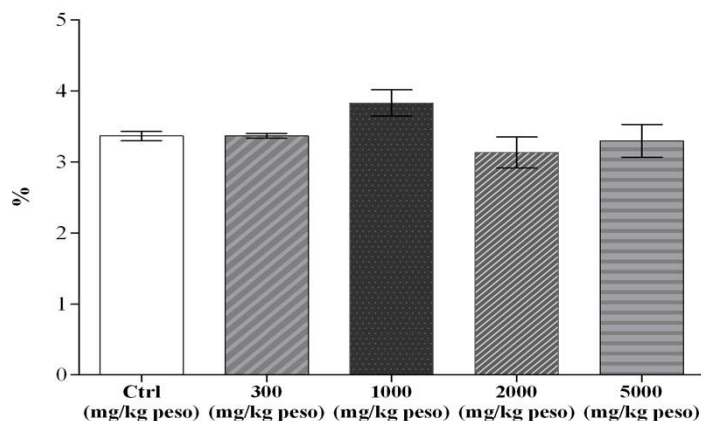


Figura 27. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Respecto a los pesos de riñón, el peso promedio en machos fue de 0.855 y en hembras de 0.861. En el caso de los machos, se observó un mayor peso en los riñones de la dosis de 5000 mg/kg peso (0.90) en comparación con los otros grupos experimentales (Ctrl (0.85), 300 mg/kg peso (0.84), 1000 mg/kg peso (0.83), 2000 mg/kg peso (0.83)). No se observaron cambios significativos entre estos ($p = 0.157$) (**Figura 27**). En las hembras, la dosis de 1000 mg/kg peso (0.890) fue mayor comparado con las otras dosis experimentales (Ctrl (0.846), 300 mg/kg peso (0.846), 2000 mg/kg peso (0.883), 5000 mg/kg peso (0.840)). No se observaron diferencias significativas entre estas ($p = 0.379$) (**Figura 28**).

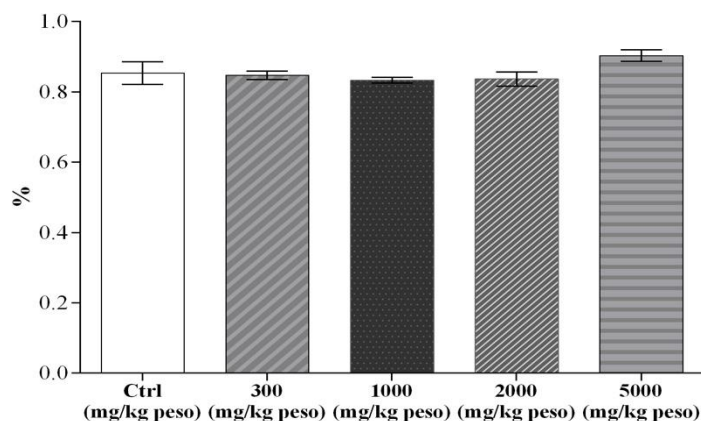


Figura 28. Efecto de las dietas experimentales en el peso del riñón en ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

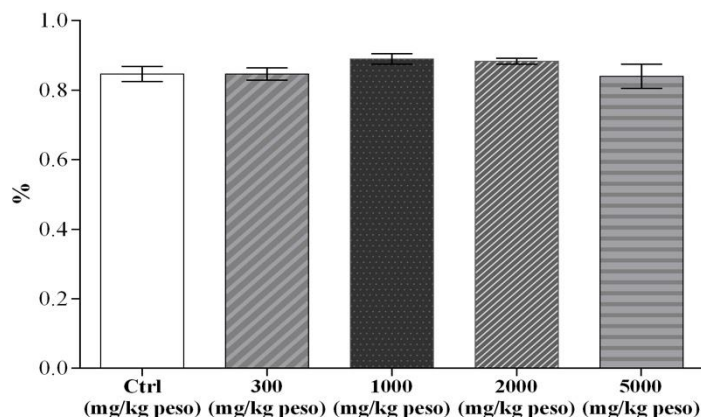


Figura 29. Efecto de las dietas experimentales en el peso del riñón en ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Debido a la diferencia de género, los pesos de los hígados de los machos fueron mayores que los de las hembras con diferencias significativas en la dosis de 2000 mg/kg peso ($p=0.0012$) (**Figura 29**). No se presentaron diferencias significativas entre los pesos de los riñones al compararse entre ambos sexos ($p=0.059$) (**Figura 30**).

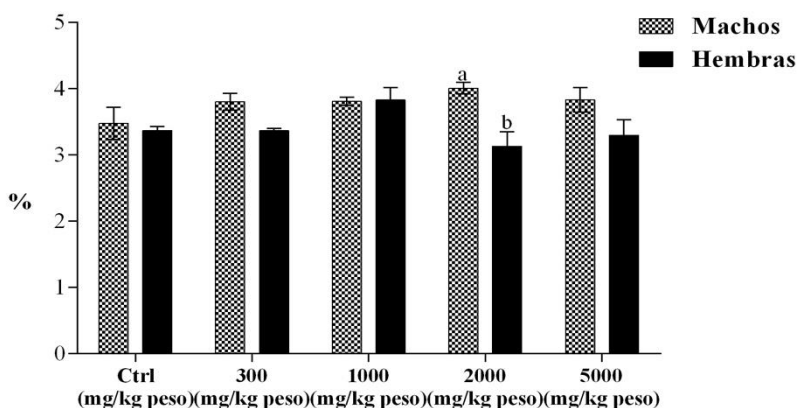


Figura 30. Efecto de las dietas experimentales en el peso de hígado en ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

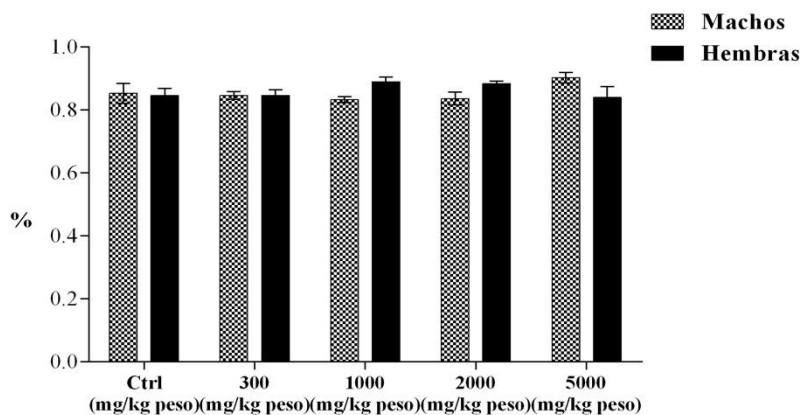


Figura 31. Efecto de las dietas experimentales en el peso de riñón en ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Referente a la extirpación de hígados y riñones de los diferentes grupos experimentales no se observaron anomalías externas topográficas ni de coloración (**Figuras 31 y 32**).

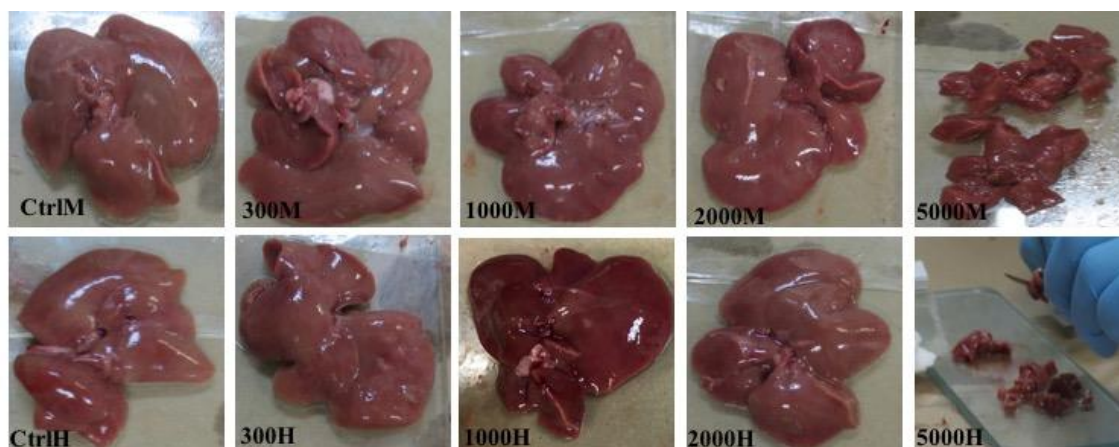


Figura 32. Muestras de hígado después de la ingesta de las dietas experimentales en ratas machos y hembras. CtrlM (Grupo control machos); 300M (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000M (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000M (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000M (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos); CtrlH (Grupo control hembras); 300H (Grupo de dosis 300 mg/kg peso hembras); 1000H (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso hembras); 2000H (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso hembras); 5000H (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso hembras).

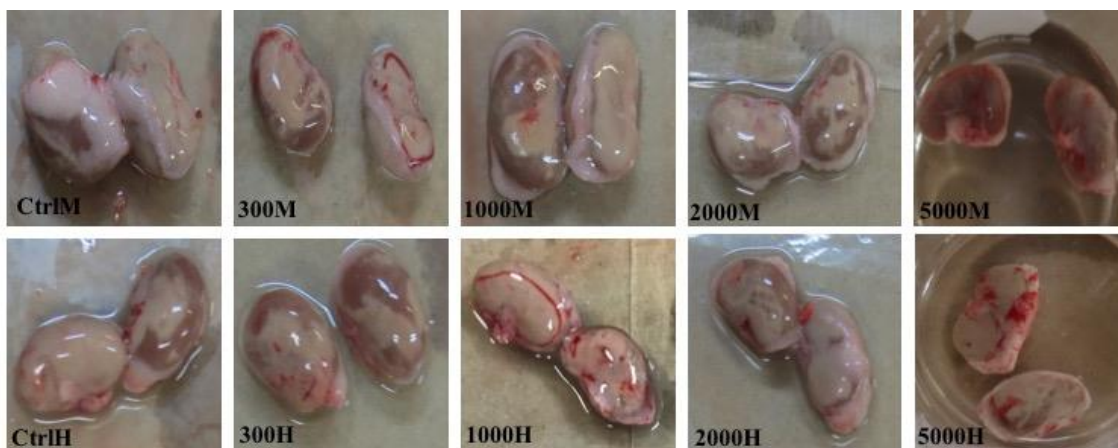


Figura 33 Muestras de riñón después de la ingesta de las dietas experimentales en ratas machos y hembras. CtrlM (Grupo control machos); 300M (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000M (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000M (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000M (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos); CtrlH (Grupo control hembras); 300H (Grupo de dosis 300 mg/kg peso hembras); 1000H (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso hembras); 2000H (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso hembras); 5000H (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso hembras).

Chiu *et al.* (2000) realizaron un estudio de toxicidad aguda en ratones ICR durante 2 semanas. Los ratones fueron tratados con *Ganoderma* en dosis de 0.9259 g de extracto acuoso liofilizado/kg peso. No se observaron anomalías en los hígados y riñones ni cambios significativos en el peso de los órganos de los ratones. Se ha demostrado que un aumento en el peso de hígado y riñón se debe a la presencia de diabetes acompañado de niveles altos de albúmina urinaria y cistatina C plasmática (Alter *et al.*, 2011). Acorde a la literatura, en este estudio no se observaron aumentos significativos en el peso de órganos de hembras y machos, ni anomalías físicas en hígado y riñón que indiquen daño hepático o renal.

8.4. Efecto de las dietas experimentales con extracto de *Ganoderma lucidum* sobre la glucosa y el perfil lipídico en suero

En la **Figura 33** se muestra el efecto de las dietas experimentales sobre la concentración de glucosa en plasma de las ratas machos. Como se puede observar los machos que consumieron una dosis del extracto de 2000 mg/kg peso (169.7 mg/dL) presentaron niveles de glucosa más altos en comparación con los otros grupos experimentales (Ctrl (150.6 mg/dL); 300 mg/kg peso (160.9 mg/dL); 1000 mg/kg peso (154.0 mg/dL); 5000 mg/kg peso (150.0 mg/dL)), no obstante, la dosis de 5000 mg/kg peso presentó una ligera disminución de la glucosa comparado con el grupo control sin diferencias significativas ($p=0.107$)

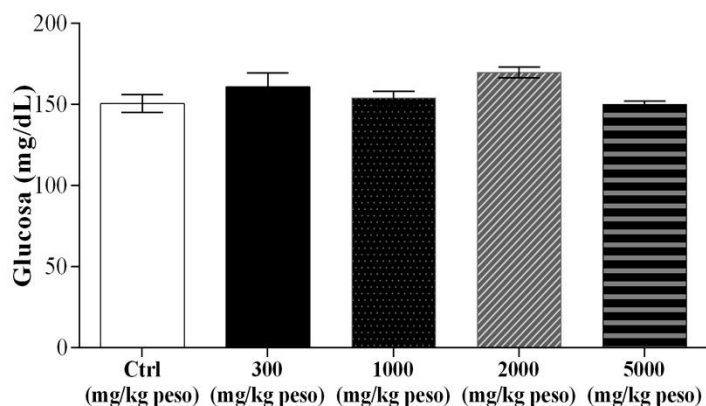


Figura 34 Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En el caso de las hembras, se observó una disminución en la glucosa sérica en el grupo de dosis de 5000 mg/kg peso (138.2 mg/dL) en comparación con el grupo control (155.6 mg/dL) (**Figura 34**). No existen diferencias significativas entre estas ($p=0.382$). En la **Figura 35** se compararon los valores obtenidos de ambos sexos, no se presentaron cambios significativos ($p=0.131$).

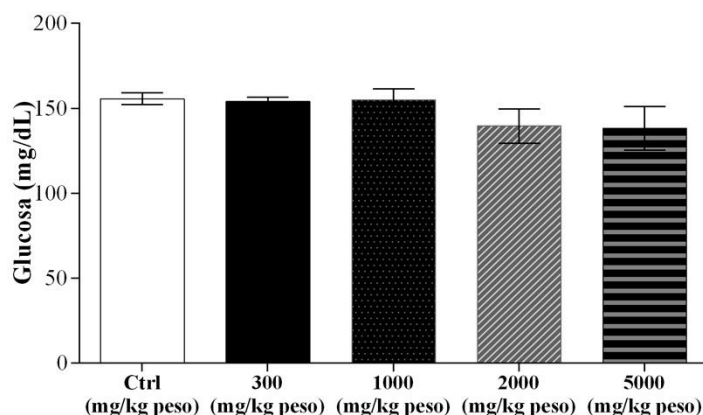


Figura 35. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

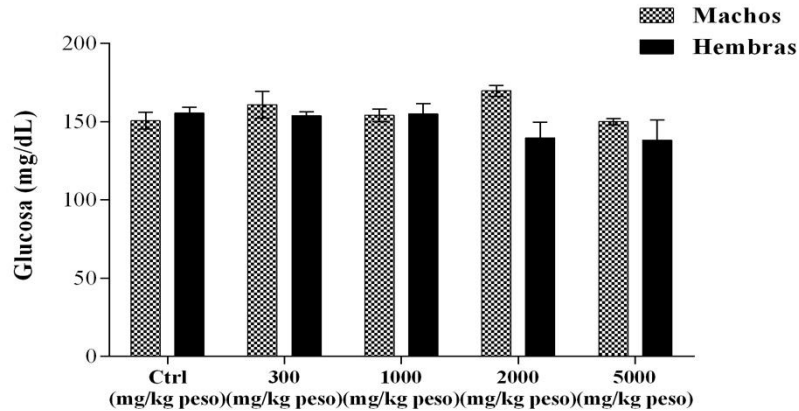


Figura 36. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Se ha demostrado que los polisacáridos de *G. lucidum* disminuyen los niveles de glucosa sérica al compararse el grupo control y una dosis mayor a 150 mg/kg peso. Uno de los posibles mecanismos de este efecto antihiper glucémico podría ser el estímulo en la liberación de insulina (Li, Zhang & Zhong, 2011). Además, los polisacáridos podrían aumentar la regeneración de las células beta en el páncreas o permitir la recuperación de células beta parcialmente destruidas y estimular la secreción de insulina pancreática (Zhang & Feng, 2004). Los polisacáridos de *G. lucidum* disminuyen la glucosa hepática y evitan la hiperglucemia (Agius, 2007; McCormack *et al.*, 2001), inhiben la actividad y la nitración de la superóxido dismutasa de manganeso (Mn SOD), suprimen la actividad del glutatión peroxidasa (GPx) y disminuye la expresión de la enzima redox p66Shc y la fosforilación (Ma *et al.*, 2015). Un estudio realizado en ratones normales y diabéticos tratados con un proteoglicano antihiper glucémico (FYGL) de *G. lucidum*, demostró ser un agente antidiabético eficaz debido al aumento en la secreción de insulina y disminución en la producción de glucosa hepática junto con el aumento de la eliminación de glucosa en el tejido adiposo y esquelético en la etapa tardía de la diabetes. FYGL aumenta la actividad de la enzima clave glucoquinasa de forma dosis-dependiente, incrementando la utilización de la glucosa en sangre para la producción de energía o almacenamiento de glucógeno (Pan *et al.*, 2013).

Otro estudio realizado en ratones normales y diabéticos demostró el efecto hipoglucémico del extracto de *G. lucidum* en dosis de 100 mg/kg peso debido a la acción de los ganoderanos A y B (Hikino *et al.*, 1985). El ácido ganodérico C2, A y Df presentes en los extractos presentan actividad inhibitora de la enzima aldosa reductasa (Fatmawati *et al.*, 2009). La α -glucosidasa convierte los disacáridos y oligosacáridos en glucosa en el epitelio del intestino delgado y, por lo tanto, la inhibición de la α -glucosidasa por los ácidos ganodéricos conduce a aliviar la hiperglucemia (Fatmawati *et al.*, 2011a). Los resultados obtenidos en este estudio comprueban el efecto hipoglucémico del extracto de *G. lucidum* en ratas machos y hembras normales en dosis de 5000 mg/kg peso.

Para estudiar los efectos del extracto de *G. lucidum* sobre los lípidos en sangre, se midieron las concentraciones séricas de CT, LDL-C, HDL-C y TG. En el caso de las concentraciones de colesterol total en machos se observó una ligera disminución entre el grupo control (57.25 mg/dL) y el grupo de dosis de 300 mg/kg peso (51.0 mg/dL), sin embargo, no se observaron cambios significativos entre estos ($p=0.182$) (**Figura 36**). En la **Figura 37** los niveles de colesterol en hembras aumentaron entre el grupo control (75.1 mg/dL) y las dosis experimentales (300 mg/kg peso (69.3 mg/dL); 1000 mg/kg peso (78.6 mg/dL); 2000 mg/kg peso (65.6 mg/dL); 5000 mg/kg peso (68.0 mg/dL)) sin diferencias significativas ($p=0.328$). En la **Figura 38** se observa que las ratas hembras presentaron mayores niveles de colesterol total en comparación con los machos, sin cambios significativos ($p=0.250$).

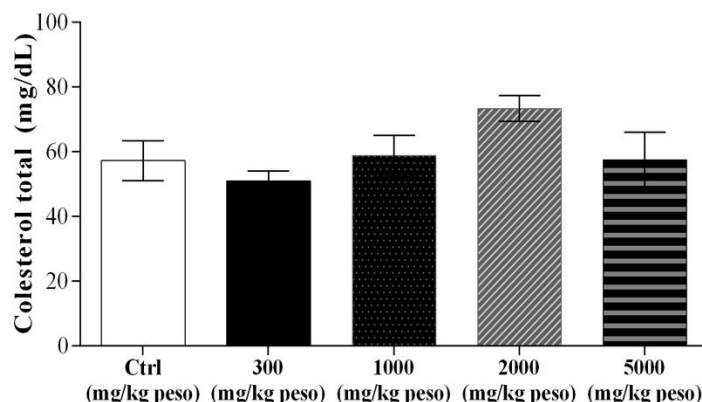


Figura 37. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

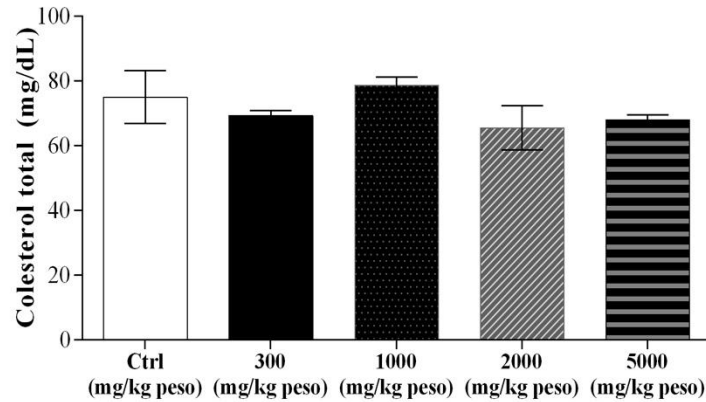


Figura 38. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

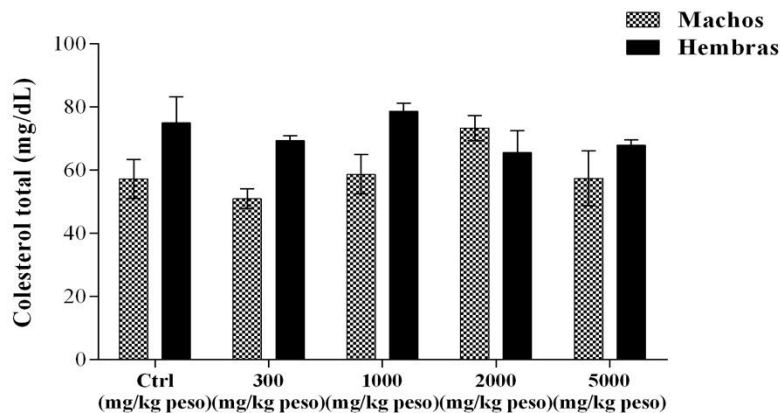


Figura 39. Efecto de las dietas experimentales en el colesterol total de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Meneses *et al.*, (2016) demostraron que una dieta adicionada con el extracto de *G. lucidum* en dosis bajas reduce significativamente los niveles de colesterol total en ratones C57BL/6, acompañado de la disminución en los niveles de LDL-C debido a la cantidad de glucanos presentes en el extracto, la disminución en los niveles de colesterol y LDL-C es similar al fármaco hipocolesterolémico simvastatina. Se ha demostrado que el proteoglicano FYGL tiene un efecto antihiper glucemiante, debido a que reduce significativamente el nivel

de HbA1c, un parámetro clave en el control de la glucemia a largo plazo (Pan *et al.*, 2013). Asimismo, se ha demostrado que los β -glucanos tienen capacidad prebiótica y estimulan el crecimiento de *Lactobacillus*, que pueden estar asociados a la reducción de colesterol sérico posiblemente como resultado de la acción de la enzima bacteriana hidrolasa de sales biliares, afectando la reabsorción del colesterol en el intestino (Caesar, Fak & Backhed, 2010; Jones *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos en este estudio mostraron niveles estables de colesterol total en machos y hembras.

Respecto a los valores de LDL-C en machos no existen diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales ($p=0.978$) (**Figura 39**), al igual que en las ratas hembras ($p=0.484$) (**Figura 40**). Al comparar el grupo control y el grupo con ingesta de dosis de 5000 mg/kg peso de ratas hembras, se observó una ligera disminución en los valores de LDL-C, al igual que en los valores de HDL-C (**Figura 41**). Las dosis de 300 y 1000 mg/kg peso mostraron un incremento favorable en los niveles de HDL-C respecto al control, sin diferencias significativas ($p=0.494$). En machos los niveles de LDL-C se mantuvieron estables (**Figura 42**). Existen diferencias significativas en los niveles de HDL-C entre el grupo de dosis de 2000 mg/kg peso (65.1 mg/dL) y las dosis de 300, 1000 y 5000 mg/kg peso ($p=0.017$).

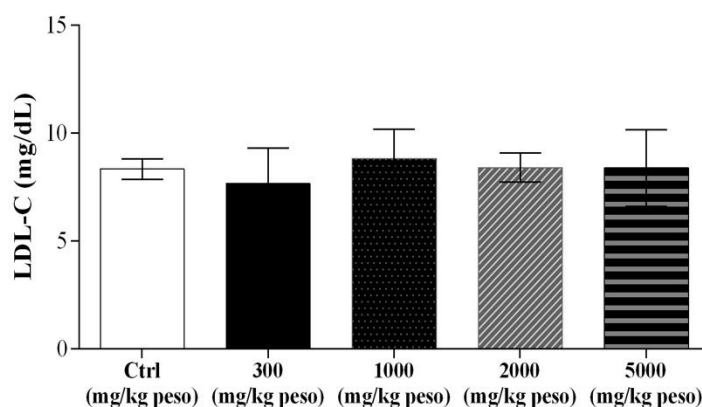


Figura 40. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

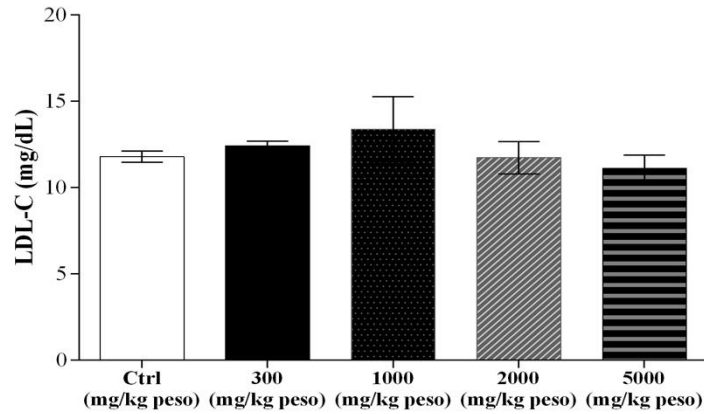


Figura 41. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

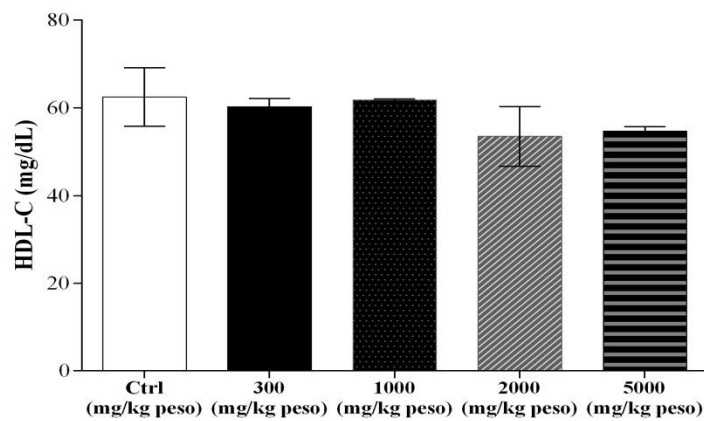


Figura 42. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

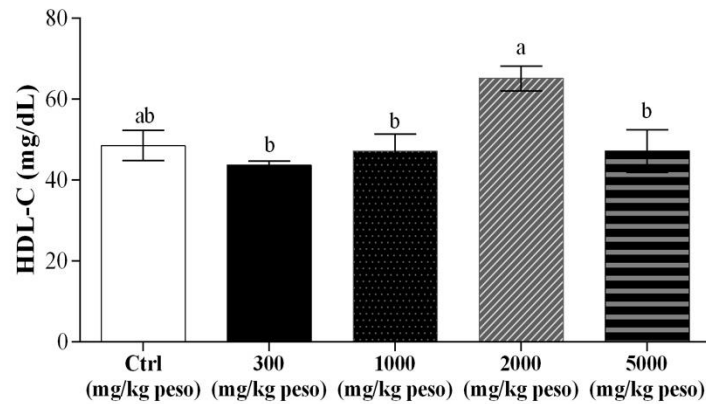


Figura 43. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 43** las hembras presentaron niveles más altos de LDL-C en comparación con los machos sin diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.899$). Asimismo, en los valores obtenidos de HDL-C las hembras obtuvieron niveles más altos comparado con los machos, a excepción del grupo de dosis de 2000 mg/kg peso, sin diferencias significativas ($p=0.303$) (**Figura 44**).

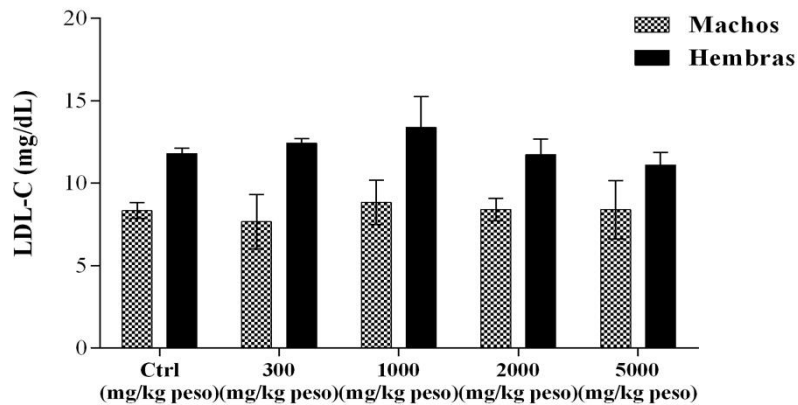


Figura 44. Efecto de las dietas experimentales en LDL-C de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

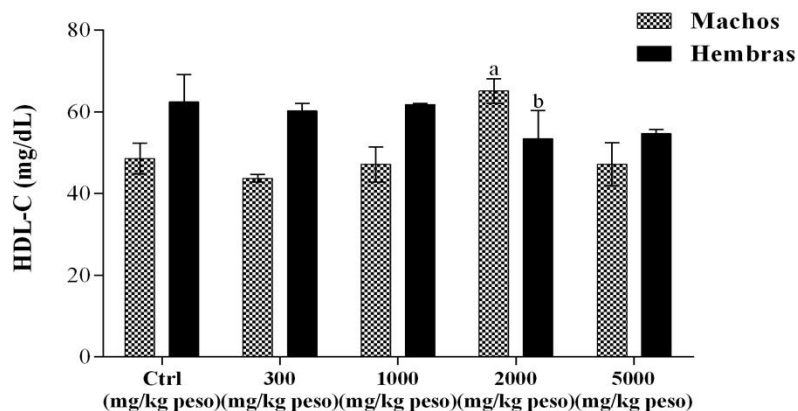


Figura 45. Efecto de las dietas experimentales en HDL-C de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

En la **Figura 45** los machos mostraron una ligera disminución en los niveles de triglicéridos en la dosis de 300 mg/kg peso (81.4 mg/dL) respecto al control, no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.5094$). Asimismo, los niveles de triglicéridos en hembras del grupo de dosis de 300 mg/kg peso (46.9 mg/dL) fue menor respecto a los grupos experimentales, sin diferencias significativas ($p=0.4245$) (**Figura 46**).

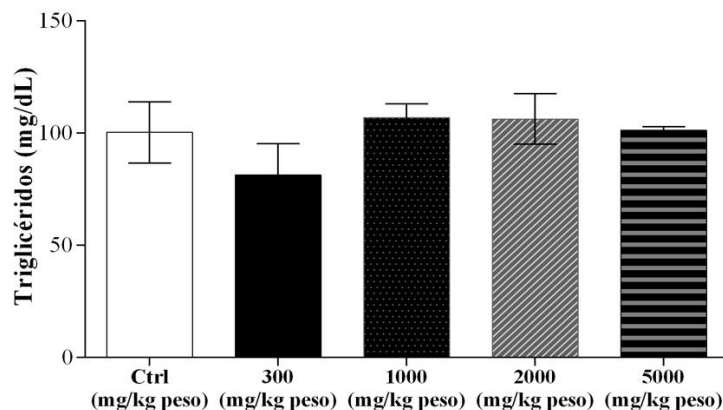


Figura 46 Efecto de las dietas experimentales en los triglicéridos de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

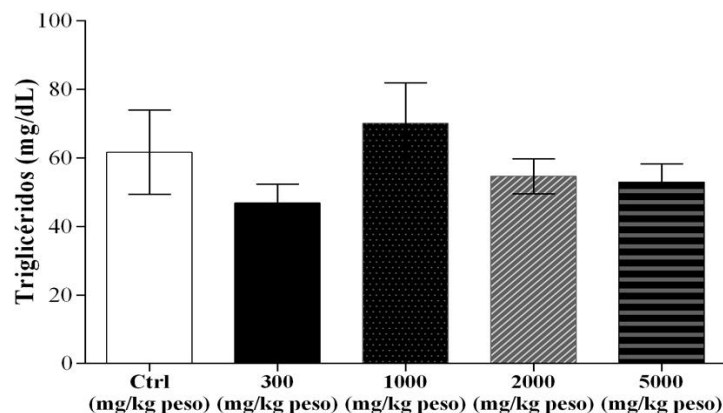


Figura 47 Efecto de las dietas experimentales en los triglicéridos de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Al compararse ambos sexos se observaron diferencias significativas en la dosis de 2000 mg/kg peso ($p < 0.0001$) (**Figura**).

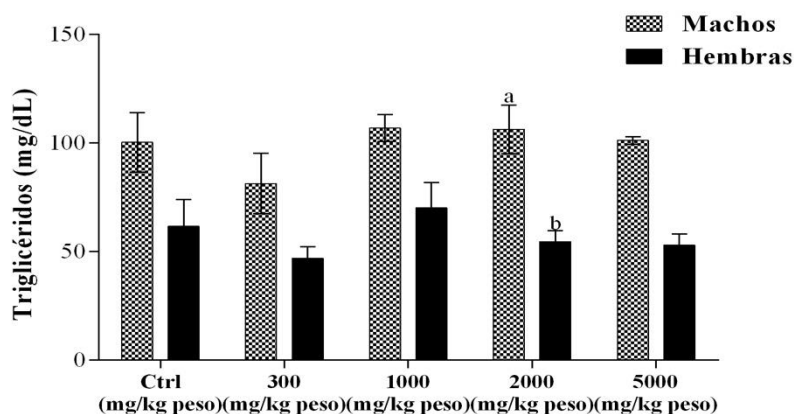


Figura 48. Efecto de las dietas experimentales en triglicéridos de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Li, Zhan & Zhong (2011) observaron que la ingesta de polisacáridos de *G. lucidum* disminuyen los niveles de triglicéridos en plasma al compararse un grupo control y dosis mayores a 150 mg/kg peso. En este estudio se observó una mayor disminución de los triglicéridos en hembras y machos en dosis bajas (300 mg/kg peso).

Se ha demostrado que las dislipidemias se asocian con diabetes mellitus no controlada debido a que los niveles de CT, TG y LDL-C aumentan, mientras que los niveles de HDL-C disminuyen ocasionando complicaciones secundarias de la diabetes (Ahmed *et al.*, 2001; Mansi, Amneh & Nasr, 2007; Elberry *et al.*, 2011). En el presente estudio, la ingesta del extracto de *G. lucidum* en hembras y machos mostró disminuciones en los niveles de CT, LDL-C y TG y aumentó ligeramente las concentraciones de HDL-C en los grupos experimentales, por lo que, los datos obtenidos probablemente indican que el extracto puede acelerar la eliminación del colesterol de los tejidos periféricos al hígado para el catabolismo y la excreción ya sea por la baja actividad de las enzimas de biosíntesis del colesterol o al bajo nivel de lipólisis que están bajo el control de la insulina (Gong *et al.*, 2009).

Los compuestos bioactivos de *G. lucidum* como oxigenoesteroles, ganoderol y ácido ganodérico regulan negativamente la biosíntesis del colesterol al inhibir la enzima 14 α -desmetilasa del lanosterol que cataliza la biotransformación del 24,25-dihidrolanosterol al colesterol (Hajjaj *et al.*, 2005). Además, los efectos hipocolesterolémicos pueden atribuirse a los α -glucanos y β -glucanos de *G. lucidum* que promueven sinérgicamente el efecto reductor del colesterol (Meneses *et al.*, 2016). Un mecanismo de acción para una menor absorción de colesterol es la baja solubilidad y viscosidad de los β -glucanos en el intestino (Theuwissen & Mensink, 2008), así como la capacidad antioxidante de *G. lucidum* para mejorar el perfil lipídico en plasma y evitar la aterogénesis al disminuir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la peroxidación lipídica (Wachtel-Galor *et al.*, 2004; Guillamon *et al.*, 2010).

8.5. Efecto de las dietas experimentales con extracto de *Ganoderma lucidum* sobre valores en suero relacionados con daño hepático e inflamación

Para analizar la toxicidad del extracto de *Ganoderma lucidum* se midieron las concentraciones séricas de las transaminasas ALT, AST, y albúmina como parámetros relacionados con daño hepático en ambos sexos. En la **Figura 48** se observó un ligero aumento en los niveles de ALT al compararse el grupo control (42.67 U/L) con los otros grupos experimentales (300 mg/kg peso (45.57 U/L); 1000 mg/kg peso (44.63 U/L); 2000 mg/kg peso (41.20 U/L); 5000 mg/kg peso (40.45 U/L)). No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales ($p=0.9312$). Del mismo modo, en la

Figura 49 los niveles de AST en machos incrementaron al compararse el grupo control (166.9 U/L) con las dosis experimentales (300 mg/kg peso (224.1 U/L); 1000 mg/kg peso (203.8 U/L); 2000 mg/kg peso (163.0 U/L); 5000 mg/kg peso (179.3 U/L)). No se observaron cambios significativos entre los diferentes grupos experimentales ($p= 0.1632$).

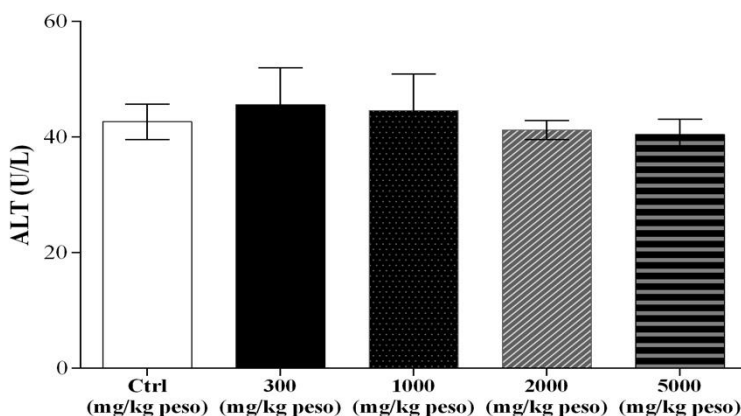


Figura 49. Efecto de las dietas experimentales en la alanino aminotransferasa de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

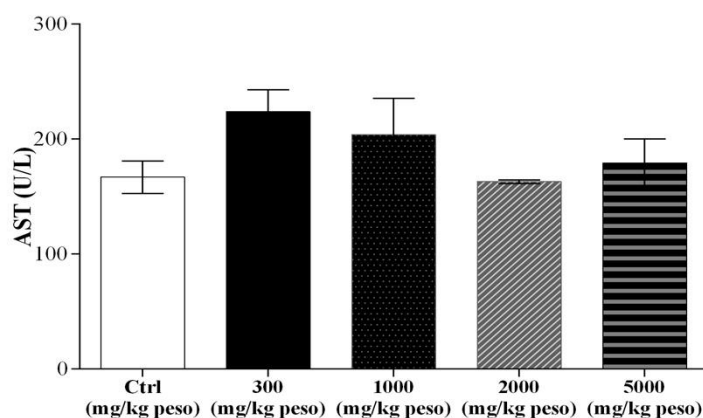


Figura 50. Efecto de las dietas experimentales en el aspartato aminotransferasa de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En contraste, los niveles de ALT en hembras disminuyeron al comparar el grupo control (43.5 U/L) y las dosis experimentales (300 mg/kg peso (40.30 U/L); 1000 mg/kg peso (35.70 U/L); 2000 mg/kg peso (40.50 U/L); 5000 mg/kg peso (39.50 U/L)), no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.6362$) (**Figura 50**). En la **Figura 51** las concentraciones de AST disminuyeron en las dosis bajas experimentales respecto al control, sin cambios significativos ($p=0.4457$).

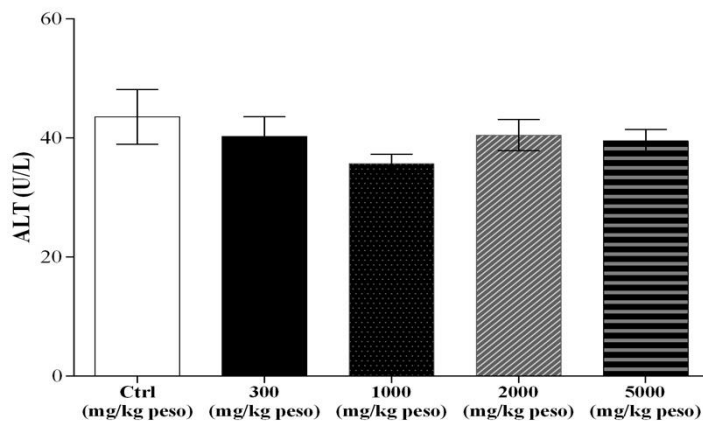


Figura 51. Efecto de las dietas experimentales en la alanina aminotransferasa de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

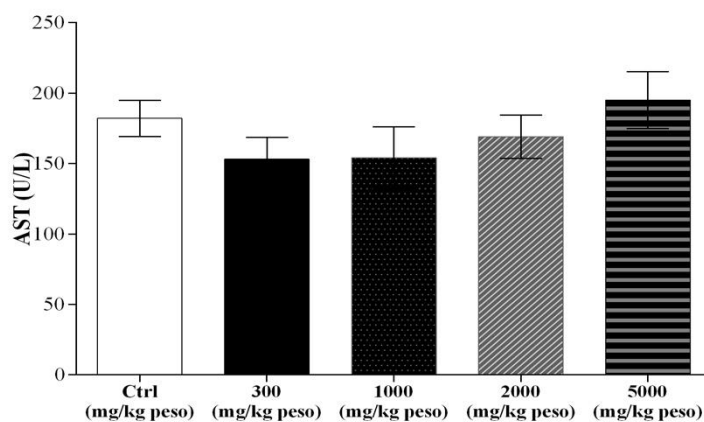


Figura 52. Efecto de las dietas experimentales en el aspartato aminotransferasa de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Los polisacáridos y triterpenoides en *G. lucidum* se han propuesto como responsables de las actividades protectoras contra la lesión hepática inducida por toxinas (Gao *et al.*, 2003a). Un estudio en ratones con daño hepático por etanol indicó que los polisacáridos de *G. lucidum* podrían prevenir lesiones en hígado (Zhou *et al.*, 2002a). El ácido ganodérico A disminuye de lesión hepática debido a que inhibe la actividad de la beta-glucuronidasa, un indicador de daño hepático (Kim *et al.*, 1999). Un pretratamiento con péptidos de *G. lucidum* en dosis de 180 mg/kg reduce los niveles de transaminasas y protege la membrana celular contra los radicales libres cuando se administra d-galactosamina (d-GalN) para inducir la lesión hepática (Shi *et al.*, 2008). Las esporas de *G. lucidum* en dosis de 0.1, 0.5 y 1.0 g/kg peso durante 7 días en ratones son eficaces para la protección de daño hepático inducida por Cd (II) debido a que disminuyen los niveles de transaminasas por la acción de metalotioneína hepática (Jin *et al.*, 2013).

Se ha demostrado que el extracto de *G. lucidum* con AAS disminuye las concentraciones de ALT y AST en ratones con hipercolesterolemia después de 42 días de ingesta (Meneses *et al.*, 2016). Otro estudio realizado en ratas Wistar inducidos a una fibrosis hepática por CCl₄ mostraron una disminución en los niveles de ALT y AST en plasma al incorporar el extracto crudo de *G. lucidum* en dosis de 1600 mg/kg peso, así como una reducción en la expresión de metionina adenosiltransferasa (MAT), enzima clave para el metabolismo de la metionina hepática, por tanto, *G. lucidum* mostró un efecto hepatoprotector (Mato *et al.*, 1997; Lin & Lin; 2006). Los triterpenoides de *G. lucidum* (GTs) presentaron un efecto citoprotector contra el daño oxidativo inducido por t-BHP en células HepG2 debido a la reducción de los niveles de ALT, AST y LDH en el medio de cultivo y disminución de MDA intracelular, así como la elevación de la actividad de SOD y concentración de GSH, sugiriendo así su posible uso como protector hepático (Jian *et al.*, 2016). Por otro lado, las ratas machos Wistar son más vulnerables a los incrementos significativos en los niveles de ALT, y en consecuencia al daño hepático debido a dietas ricas en hidratos de carbono (Kok, Roberfroid & Delzenne, 1996). En cambio, las hembras son más resistentes a sufrir este tipo de lesión por el papel de los estrógenos en la inducción de genes relacionados con la β oxidación hepática, y por tanto con el mantenimiento de la homeostasia lipídica en este órgano (Nemoto *et al.*, 2000). En este estudio, la ingesta del extracto de *G. lucidum* en hembras disminuye los niveles de ALT y AST en las dosis de 300, 1000 y 2000 mg/kg peso, en machos ambos parámetros se mantienen

estables, sin cambios significativos respecto al control. Por tanto, los resultados obtenidos sugieren que el extracto de *G. lucidum* es seguro ya que no se observaron niveles altos de transaminasas al compararse con el grupo control.

En la **Figura 52** se puede observar que las concentraciones de albúmina en machos se mantienen estables sin diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.0600$).

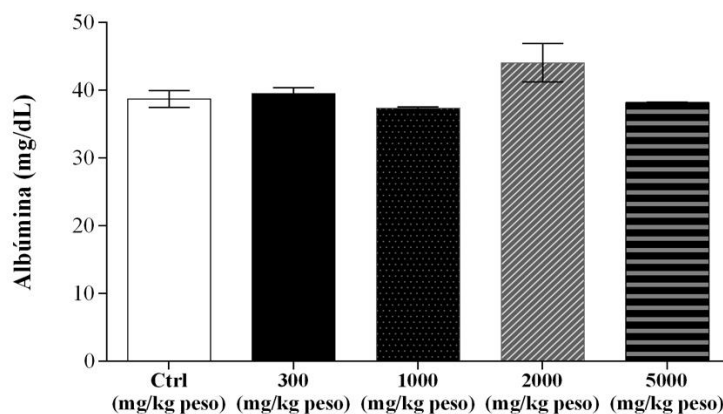


Figura 53 Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En el caso de las hembras se muestra un ligero aumento en la dosis de 5000 mg/kg peso (44.3 mg/dL) respecto al control (41.2 mg/dL), sin diferencias significativas ($p=3736$).

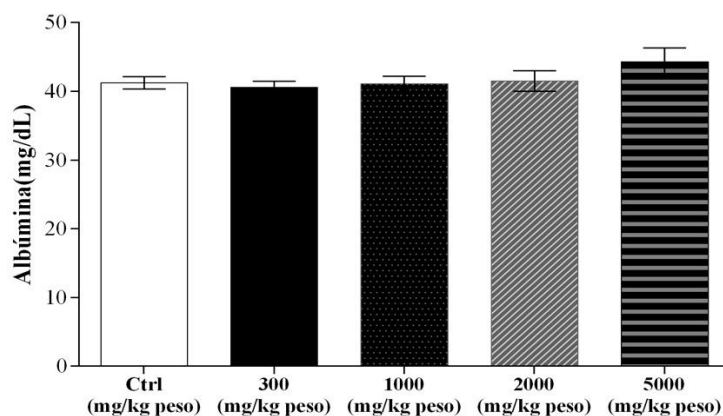


Figura 54 Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

No existen diferencias significativas entre los valores de albúmina al comparar las ratas machos y hembras ($p=0.065$).

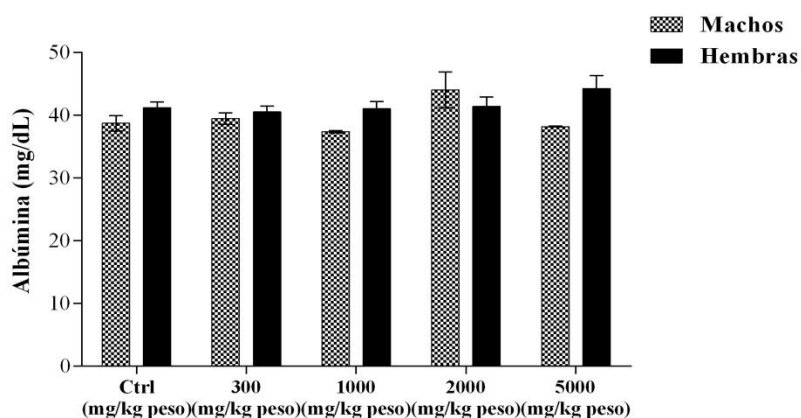


Figura 55 Efecto de las dietas experimentales en la albúmina de ratas hembras y machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=30$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

La concentración de albúmina sérica en rangos normales, juega un papel fundamental en la producción de orina, la permeabilidad de la membrana glomerular, y por ende en la función renal normal (Rodríguez *et al.*, 2014). Acorde a Zhang *et al.*, (2016) los niveles de albúmina en plasma se mantuvieron constantes sin cambios significativos después de 28 días de ingesta de polisacáridos de *G. lucidum* en ratas Wistar, sin efectos tóxicos. Acorde a los resultados obtenidos en este estudio, no se observaron cambios en los niveles de albúmina en plasma que indiquen un daño o anomalías en la función renal en las ratas.

Se analizaron las concentraciones séricas de proteína C reactiva, creatinina y urea en plasma como parámetros asociados a inflamación. Respecto a los niveles de proteína C reactiva las concentraciones obtenidas en machos no mostraron diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.325$) (**Figura 55**). En el caso de las hembras los resultados obtenidos se mantuvieron estables sin cambios significativos ($p=0.849$) (**Figura 56**).

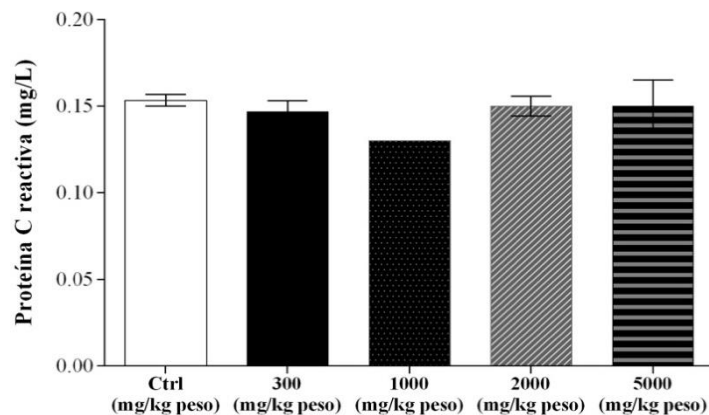


Figura 56. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

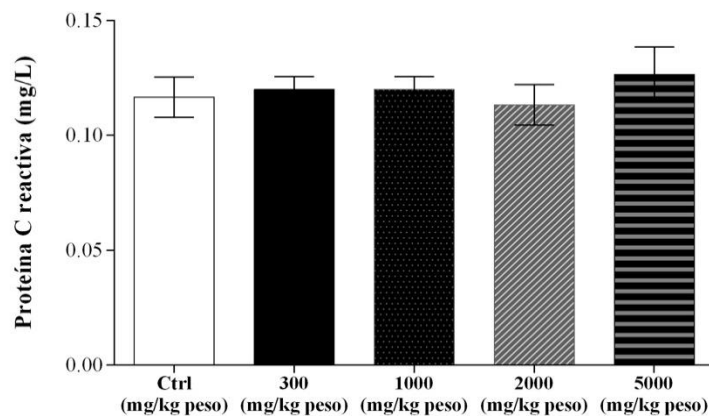


Figura 57. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 57** se observa que los machos obtuvieron valores ligeramente más altos que las hembras, sin cambios significativos entre los grupos experimentales ($p=0.490$).

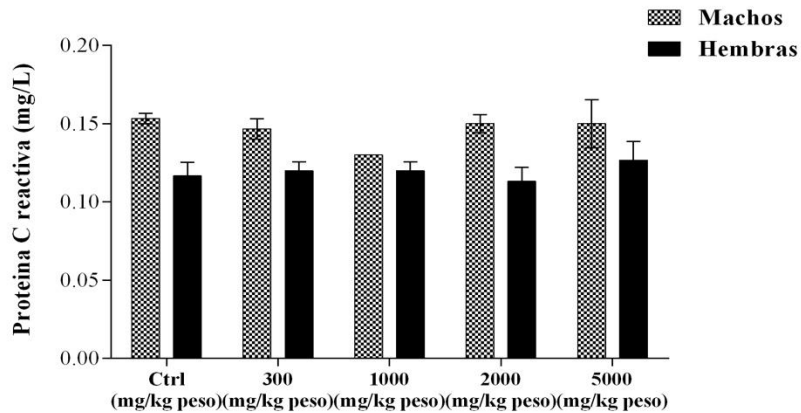


Figura 58. Efecto de las dietas experimentales en la proteína C reactiva de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

La inflamación sistémica afecta múltiples tejidos y sistemas de órganos debido a la liberación de citoquinas pro inflamatorias como la interleucina-6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), las proteínas reactivas de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR) que van desde el endotelio, el mástil y otras células inmunes al torrente sanguíneo (Holmes, 2013; Hall *et al.*, 2013). En ratones C57BL/6J alimentados con sulfato de aluminio durante 5 meses, se encontró que la PCR aumentó 13,1 veces más respecto al control, con un valor de 26,2 mg/L en el grupo alimentado con sulfato de aluminio (Pogue, Jaber & Lukiw, 2017). Las elevaciones en PCR basal son útiles para medir la infección y la lesión tisular (Pepys & Hirschfield, 2003). Los niveles de proteína C reactiva de este estudio se mostraron constantes sin diferencias significativas entre machos y hembras, por lo que, se infiere la ausencia de inflamación entre los grupos experimentales.

En el caso de los niveles de creatinina obtenidos en machos resultaron estables sin diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.381$) (**Figura 58**).

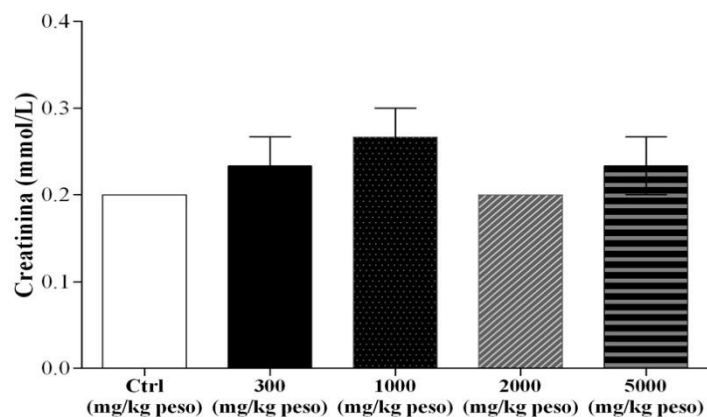


Figura 59. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 59** se muestra que los resultados de creatinina en suero en hembras que ingirieron las dosis de 2000 y 5000 mg/kg peso presentaron valores ligeramente más altos comparado con el grupo control, sin cambios significativos ($p=0.233$).

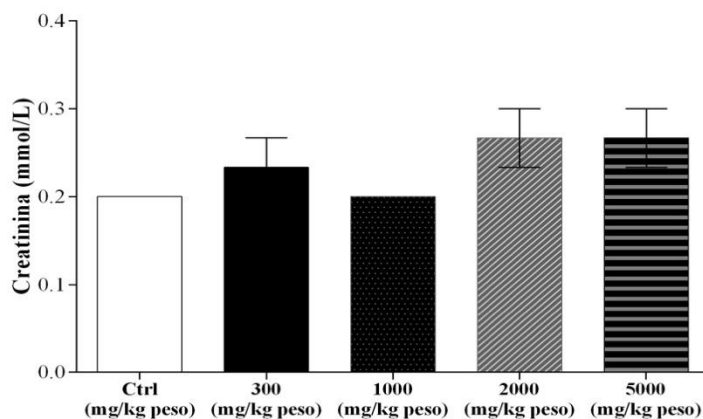


Figura 60. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Al comparar los grupos experimentales entre hembras y machos se observaron mayores niveles de creatinina en las ratas machos, a excepción de las dosis de 2000 y 5000 mg/kg peso donde las hembras mostraron niveles más altos que los machos sin diferencias significativas ($p=0.162$) (**Figura 60**). Aumentos progresivos en los niveles de creatinina plasmática muestran indicios de insuficiencia renal (Draibe & Cendoroglo, 2001). Zhang *et al.*, (2016) realizaron un estudio de toxicidad subcrónica durante 28 días en ratas Wistar demostrando que la ingesta de polisacáridos de *G. lucidum* en dosis de 2, 4 y 8 mg/kg peso mantienen estables los niveles de creatinina sin efectos tóxicos. Acorde a la literatura, los resultados obtenidos en hembras y machos durante 14 días mostraron los niveles de creatinina constantes sin cambios significativos entre las dosis experimentales.

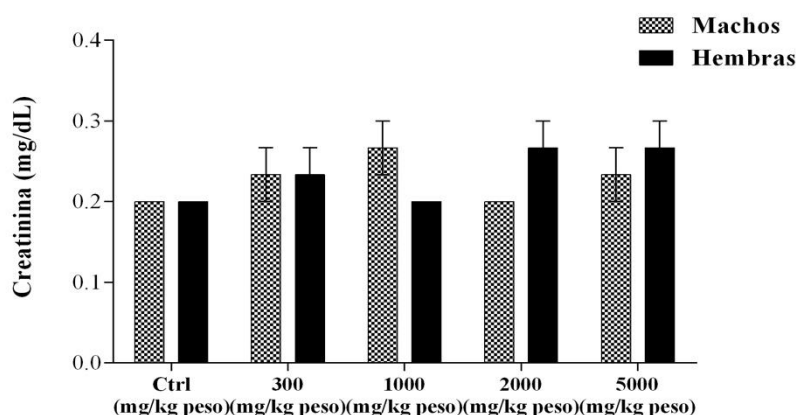


Figura 61. Efecto de las dietas experimentales en creatinina de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=30$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Por el contrario, los valores de urea en suero obtenidos en los machos de dosis de 2000 y 5000 mg/kg peso (6.08 y 5.47 mmol/L) fueron mayores comparado con los otros grupos experimentales (Ctrl (4.96 mmol/L), 300 mg/kg peso (4.37 mmol/L), 1000 mg/kg peso (4.64 mmol/L)), sin diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.102$) (**Figura 61**).

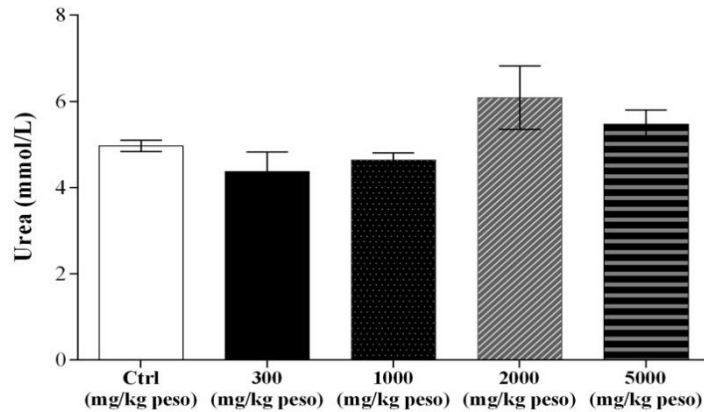


Figura 62. Efecto de las dietas experimentales en la urea de suero de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En las hembras el grupo de dosis de 5000 mg/kg peso (4.84 mmol/L) obtuvo valores más altos en comparación con los otros grupos experimentales (Ctrl (3.32 mmol/L), 300 mg/kg peso (3.29 mmol/L), 1000 mg/kg peso (3.71 mmol/L), 2000 mg/kg peso (4.43 mmol/L)). Se observaron diferencias significativas entre las dosis experimentales ($p=0.006$) (**Figura 62**).

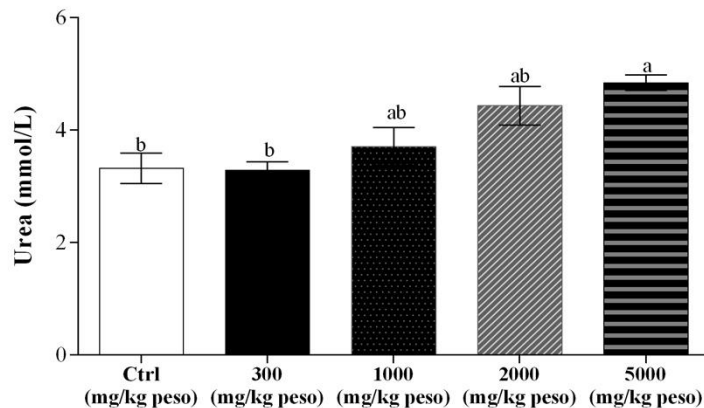


Figura 63. Efecto de las dietas experimentales en la urea de suero de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 63**, los machos mostraron valores más altos de urea respecto a las hembras sin cambios significativos ($p=0.530$).

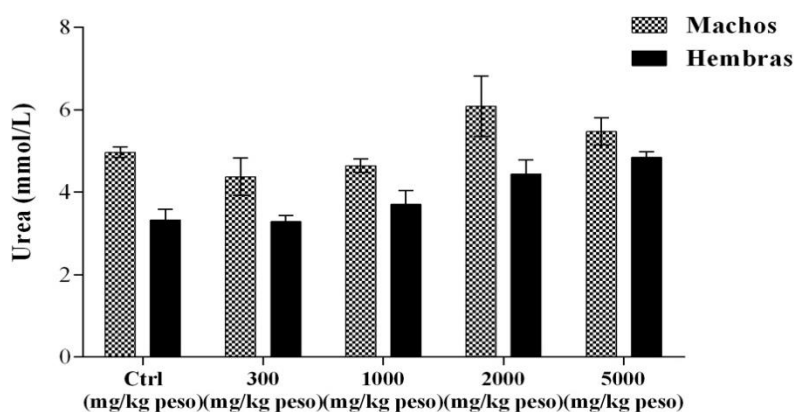


Figura 64. Efecto de las dietas experimentales en urea de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=30$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

La urea es generada por las enzimas del ciclo de la urea, que se encuentran principalmente en el hígado, pero también se expresan de forma ubicua en niveles bajos en otros tejidos. El proceso metabólico se altera en varias condiciones, como las dietas, las hormonas y las enfermedades. Una dieta con alto contenido proteico puede aumentar la síntesis de urea mediante la regulación positiva de las enzimas del ciclo de la urea hasta un 300% por encima de lo que está presente al inicio de un ayuno (Schimke, 1972). El nivel hepático de aminoácidos libres puede limitar la tasa de síntesis de urea, sin un cambio de las actividades enzimáticas al variar la calidad de la proteína en la dieta (Hayase, Yokogoshi & Yoshida, 1980). También, el daño renal produce aumentos en los niveles de creatinina, creatinfosfoquinasa (CK) y transaminasas, acompañado con un incremento relativo de urea producido por hemorragia y deshidratación (Knochel, 1999). Se ha demostrado que los parámetros clínicos asociados con insuficiencia renal aguda aumentan los niveles de urea y creatinina (Chaves *et al.*, 1989).

Los niveles de urea obtenidos en machos no mostraron cambios significativos, en cambio, en las hembras se observaron incrementos de forma dosis dependiente con diferencias significativas. Se puede inferir que las hembras son más susceptibles ante la ingesta del extracto, debido a que esta especie de *G. lucidum* tiene un alto contenido proteico, lo cual puede correlacionarse con el aumento de la síntesis de urea, descartándose un daño renal, en el análisis histopatológico se confirma el buen estado del corpúsculo renal.

8.6. Efectos del extracto de *Ganoderma lucidum* en los parámetros de orina

Para estudiar los efectos del extracto de *Ganoderma lucidum* sobre posible daño renal, se midieron las siguientes concentraciones: glucosa urinaria, nitrógeno ureico, creatinina y albúmina. En la **Figura 64** se observó un aumento de 1.3 mg/dL en la glucosa urinaria al comparar el grupo control con la dosis 5000 mg/kg peso en machos, sin diferencias significativas entre estos ($p=0.165$). Por el contrario, las hembras estadísticamente mostraron diferencias significativas entre grupos ($p=0.009$) (**Figura 65**). El grupo con la dosis de 300 mg/kg peso presentó concentraciones altas de glucosa en comparación con el grupo control y la dosis 1000 mg/kg peso. Asimismo, se muestra un aumento en las concentraciones obtenidas entre el grupo control y dosis 5000 mg/kg peso.

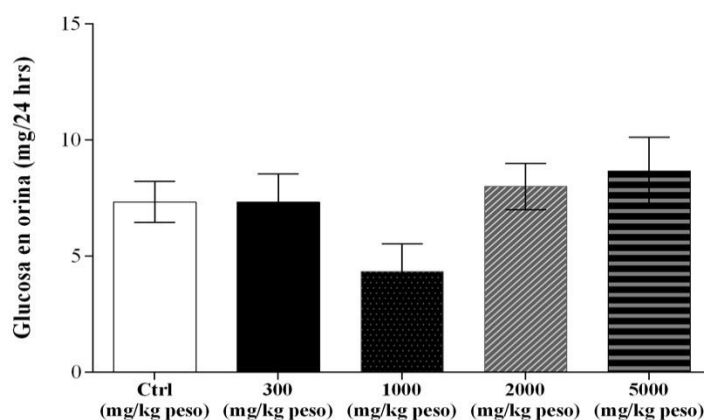


Figura 65. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

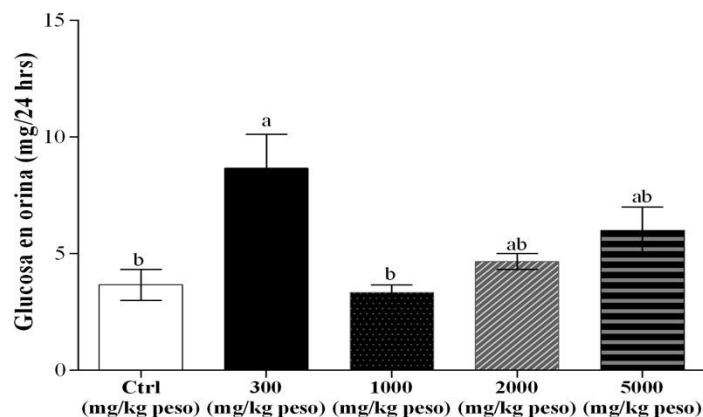


Figura 66. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En la **Figura 66** los machos presentaron concentraciones más altas de glucosa en orina que las hembras, a excepción del grupo 300 mg/kg peso. No hay cambios significativos entre los grupos experimentales ($p=0.1309$).

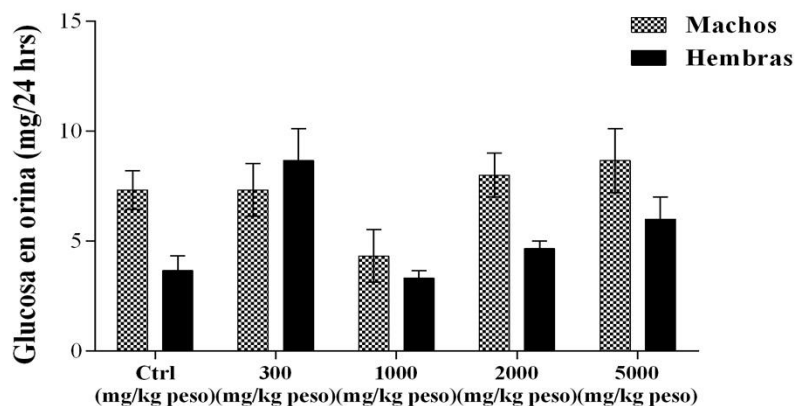


Figura 67. Efecto de las dietas experimentales en la glucosa en orina de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Se ha demostrado que los niveles de glucosa en orina aumentan en presencia de diabetes debido a la hiperfagia y glucemia elevada causando una diuresis osmótica y, por tanto, mayor pérdida de fluidos y electrolitos (Gallego *et al.*, 1999). Además, la hiperfiltración es característica de la diabetes temprana, ya que se ha observado aumentos en la tasa de filtración glomerular y en el flujo plasmático renal (Jensen *et al.*, 1981). Por otra parte, Bazzano *et al.* (2015) estudiaron biomarcadores de lesión en ratas Wistar hembras y machos con un grupo control (ratas normales) y un grupo sometido a isquemia renal izquierda durante 10 minutos y compararon la reperfusión a las 24 horas, 5, 14 y 21 días después de procedimientos. El grupo control mostró presencia de glucosa en orina tanto en hembras como machos, las cuales fueron alimentadas con una dieta estándar chow. En este estudio las ratas machos y hembras mostraron glucosa en orina, se infiere que la dieta puede influir en la excreción de glucosa debido a que no hay una reabsorción total, no obstante, se sugiere hacer otros estudios para corroborarlo. Se descarta el desarrollo de diabetes temprana ya que no se obtuvieron niveles elevados de glucosa en plasma ni tampoco se observó ningún tipo de daño en las histologías de riñón.

En machos las concentraciones de nitrógeno uréico o BUN presentaron diferencias significativas ($p=0.040$). Las dosis de 2000 y 5000 mg/kg peso obtuvieron valores más elevados respecto a los otros grupos experimentales (**Figura 67**).

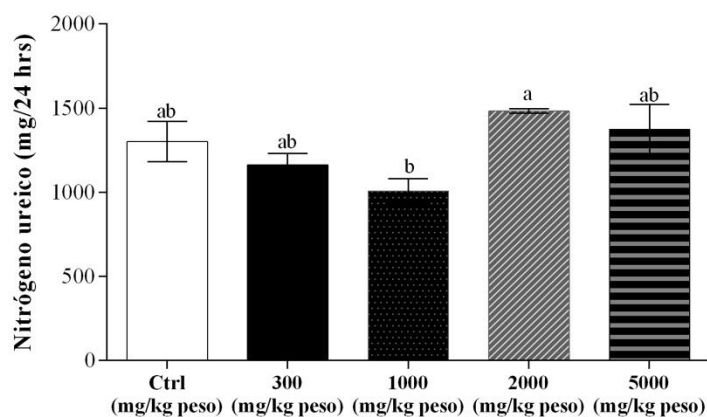


Figura 68. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

En el caso de las hembras, las dosis de 300 y 5000 mg/kg peso presentaron concentraciones altas respecto a los otros grupos experimentales, con cambios significativos entre estos ($p=0.018$) (**Figura 68**). Al comparar ambos sexos existen diferencias significativas en el grupo control y la de dosis 2000 mg/kg peso ($p=0.013$). Los machos presentaron valores más altos que las hembras de nitrógeno ureico (**Figura 69**).

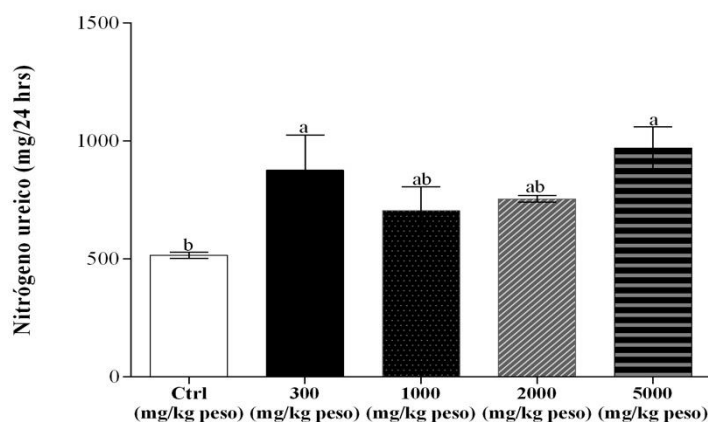


Figura 69. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

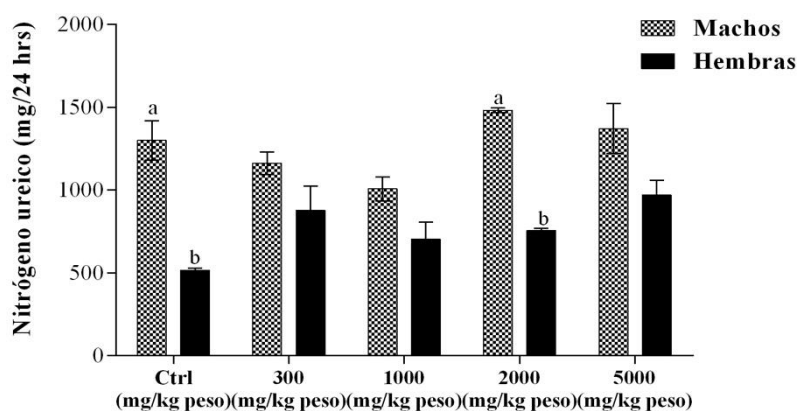


Figura 70. Efecto de las dietas experimentales en el nitrógeno ureico de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=30$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

Chiu *et al.*, (2000) realizaron un estudio de toxicidad aguda en ratones ICR y mostraron la ausencia de daño renal y hepático después de 2 semanas de tratamiento con *G. lucidum* debido a los bajos niveles de nitrógeno ureico y las histologías de hígado y riñón sin anomalías en las células de tejido entre el grupo control y el grupo que recibió el extracto de *Ganoderma*. Se ha demostrado que los polisacáridos de *G. lucidum* en dosis de 500, 2500 y 5000 mg/kg peso no causan ningún signo clínico de toxicidad, ni anomalías significativas en la ingesta de alimentos. Además, los niveles de BUN en hembras y machos no presentaron cambios significativos que indiquen daño renal (Zhang *et al.*, 2016). No obstante, los niveles de nitrógeno ureico pueden aumentar acorde a la carga proteica exógena (Bonventre *et al.*, 2010). Las concentraciones de BUN pueden aumentarse por una alta ingesta de proteínas (Traynor *et al.*, 2006). Por tanto, analizando los resultados obtenidos en este estudio se puede inferir que el alto contenido proteico del extracto de *G. lucidum* influyo en la excreción de BUN en hembras y machos, sin embargo, estos niveles no son ocasionados por un daño hepático o renal, ya que su elevación está relacionada con lo antes mencionado.

Respecto a la creatinina en machos, la dosis de 5000 mg/kg peso fue mayor respecto a los otros grupos experimentales, no se presentaron diferencias significativas ($p=0.116$) (**Figura 70**). En el caso de la albúmina en orina, los machos del grupo de dosis 2000 mg/kg peso presentó concentraciones más altas en comparación con los otros grupos experimentales, con cambios significativos ($p=0.0005$) (**Figura 71**).

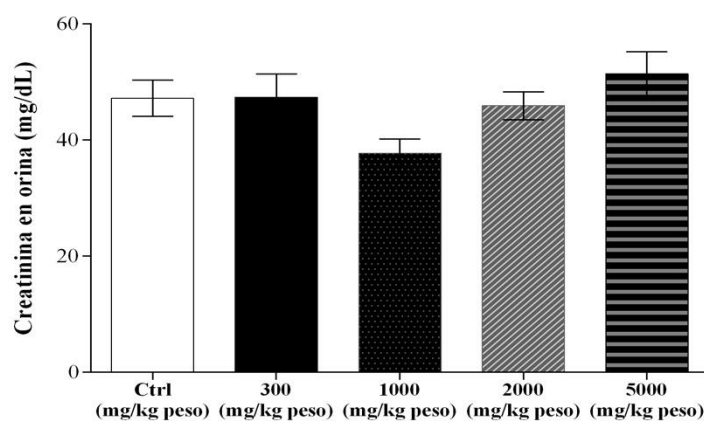


Figura 71. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina en orina de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones ($n=15$). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

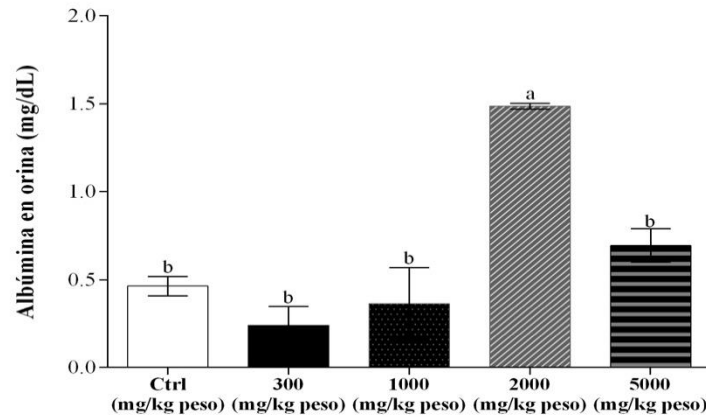


Figura 72. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas machos. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Asimismo, las concentraciones de albúmina en hembras fueron más altas en el grupo de dosis de 5000 mg/kg peso respecto a los otros grupos experimentales. No existen cambios significativos entre estas ($p=0.094$) (**Figura 72**). Por otra parte, la creatinina en orina obtenida en hembras presentó diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p=0.0004$). El grupo de dosis de 300 mg/kg peso obtuvo concentraciones más altas en comparación con el grupo control, 1000 y 2000 mg/kg peso (**Figura 73**).

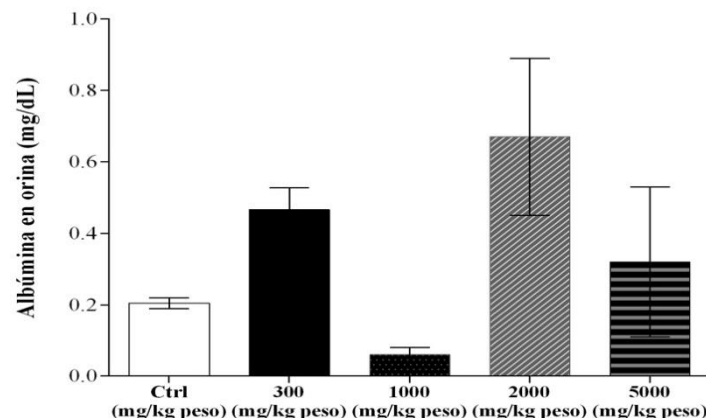


Figura 73. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

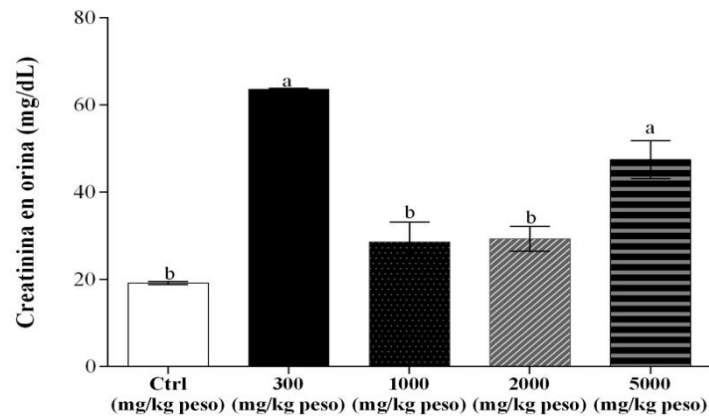


Figura 74. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina en orina de ratas hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=15). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de un factor y prueba de Tukey.

Por último, al comparar la creatinina obtenida entre ambos sexos se observaron diferencias significativas solamente en el grupo control ($p=0.007$). Los machos obtuvieron concentraciones más altas que las hembras, a excepción del grupo de dosis de 300 mg/kg peso (**Figura 74**). En relación a la albúmina en orina se observaron diferencias significativas en el grupo de dosis de 2000 mg/kg peso ($p=0.001$). Los machos presentaron valores más altos que las hembras (**Figura 75**).

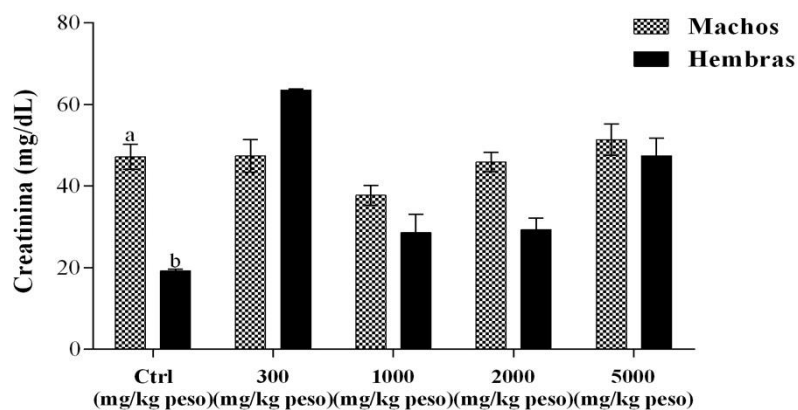


Figura 75. Efecto de las dietas experimentales en la creatinina de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

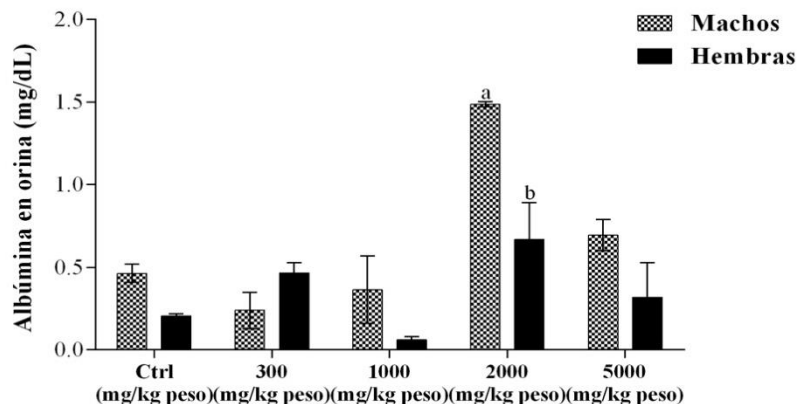


Figura 76. Efecto de las dietas experimentales en la albúmina en orina de ratas machos y hembras. Los resultados están reportados como la media \pm SEM de las observaciones (n=30). Los promedios en cada columna que muestran letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa, $p < 0.05$. Los valores corresponden a ANOVA de dos factores y prueba de Tukey.

La toxicidad renal se diagnostica por cambios en la función excretora, como aumentos en la excreción urinaria de glucosa, aminoácidos o proteínas, cambios en el volumen de la orina, osmolaridad o pH. También son indicadores de alteración de la función renal los cambios en el nitrógeno ureico en sangre (BUN) o en las concentraciones séricas de creatinina. Además, la excreción de proteínas de mayor peso molecular en la orina, como la albúmina, es sugestiva de lesión del glomérulo, mientras que la presencia de proteínas de bajo peso molecular, como la β 2-microglobulina, es más sugestiva de lesión del túbulo proximal (Hodson, 2010).

Los extractos de *G. lucidum* previenen el daño renal mediante la restauración del sistema de defensa antioxidante renal que induce el fármaco contra el cáncer (Sheena *et al.*, 2003). Un estudio realizado en ratas obesas demostró que la grasa perirrenal está relacionada con el aumento de la excreción urinaria de albúmina. El mecanismo para esta asociación puede ser la disfunción endotelial vascular renal causada por el aumento del estrés oxidativo y la activación de vías moleculares inflamatorias debido a niveles elevados de ácidos grasos libres (FFA) y baja adipolectina (Sun, Yu & Han, 2013). En este estudio se observaron diferencias significativas en los niveles de albúmina en orina de ratas machos entre la dosis de 2000 mg/kg peso y el grupo control, asimismo, las ratas hembras presentaron niveles significativos de creatinina en orina en las dosis de 300 y 5000 mg/kg peso. La excreción de albúmina y creatinina no necesariamente indican daño renal, ya que la creatinina puede verse afectada por

la masa muscular y estar dentro de los valores normales, y las concentraciones de albúmina en orina pueden aumentarse ante la ingesta de una dieta alta en proteínas. Por tanto, se requiere de la combinación de análisis de laboratorios clínicos y químicos, acompañados de histologías, ecografías e interpretación de la morfología del tejido para obtener un diagnóstico renal certero. En este estudio, las histologías realizadas en tejido renal mostraron una citoarquitectura normal.

8.7. Efecto histológico del extracto de *Ganoderma lucidum*, sobre riñón e hígado

Las Figuras 76 y 77 muestran el efecto histológico de las dietas experimentales en el hígado, con la tinción de HE en aumentos 20X del mismo campo. No se observaron cambios en las dosis experimentales de machos y hembras respecto al control, ya que la citoarquitectura de los hepatocitos es normal con los núcleos prominentes y un citoplasma uniforme.

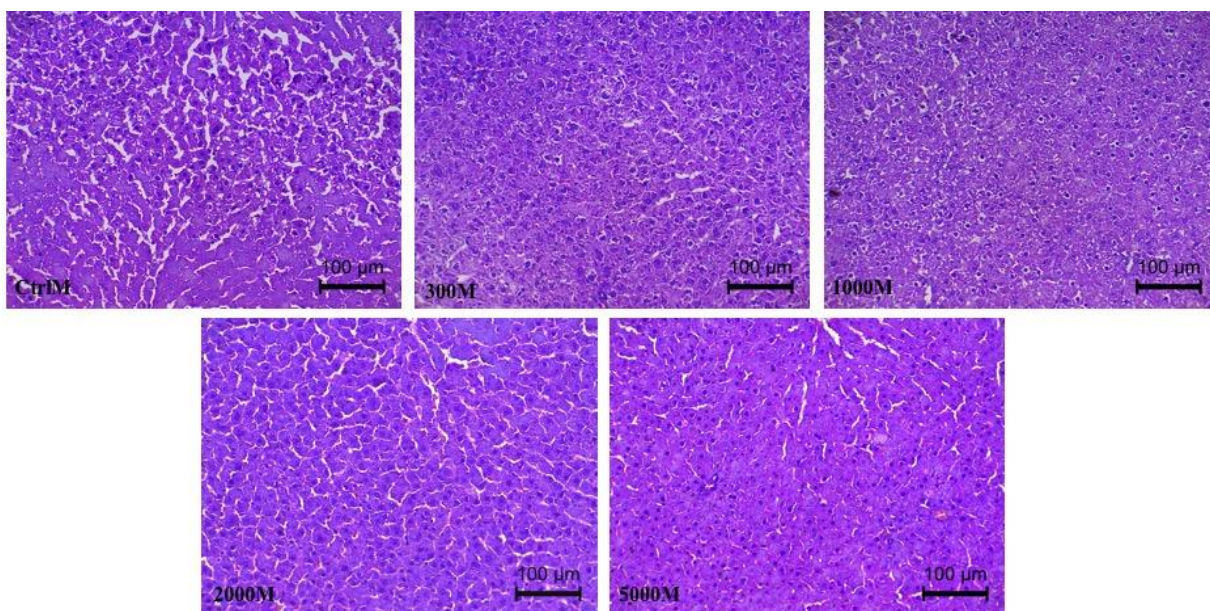


Figura 77. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de *G. lucidum* sobre los hepatocitos (hígado) en ratas machos. Tinción con hematoxilina-eosina (20X). CtrlM (Grupo control machos); 300M (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000M (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000M (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000M (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos).

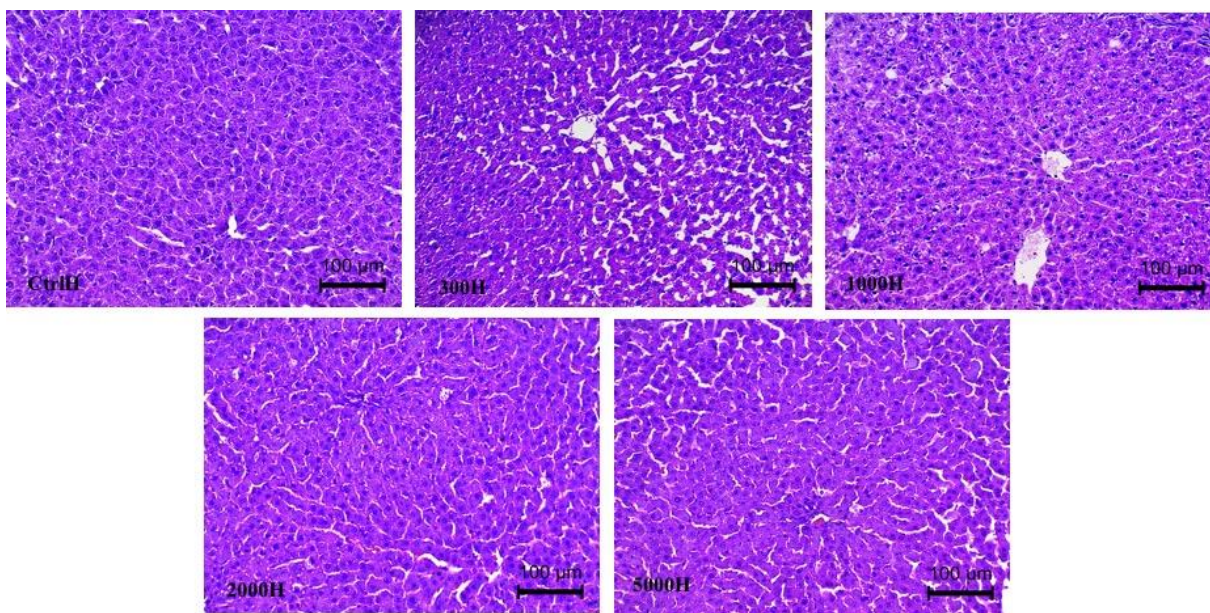


Figura 78. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de *G. lucidum* sobre los hepatocitos (hígado) en ratas hembras. Tinción con hematoxilina-eosina (20X). CtrlH (Grupo control machos); 300H (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000H (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000H (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000H (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos).

No se observó ningún tipo de daño (por ejemplo, acidofilia citoplasmática, vacuolización de hepatocitos, dilatación sinusoidal, necrosis celular). Shi *et al.*, (2008) evaluaron la actividad hepatoprotectora de los péptidos de *G. lucidum* (GLP) frente a la lesión hepática inducida por d-galactosamina (d-GalN) en ratones. Realizaron un análisis histológico en hígado y observaron que los mejores efectos hepatoprotectores de GLP se muestran con la dosis de 180 mg/kg, revirtiendo el daño hepático casi comparable al grupo control. Jin *et al.*, (2013) mostraron el efecto hepatoprotector de esporas de *G. lucidum* ante la hepatotoxicidad inducida por Cd (II) en ratones. Las esporas en dosis de 1.0 g/kg disminuyeron la acumulación de Cd (II) en núcleos hepáticos, mitocondrias y microsomas. Meneses *et al.*, (2016), realizaron un análisis histológico después de 43 días de la ingesta del extracto de *G. lucidum* (con AAS en sustrato) en ratones con dieta alta en colesterol. El consumo de dosis bajas y altas de los extractos reduce en un 51.9% el número de vacuolas lipídicas en el hígado. En este estudio, se observó que incluso en la dosis más alta no hay daño en el tejido hepático en ratas hembras y machos.

Las **Figuras 78 y 79** muestran el efecto histológico de las dietas experimentales en el riñón, con la tinción HE en aumentos 20X del mismo campo. Se observó ligero aumento de células en las dosis de 5000 mg/kg peso de machos y hembras respecto al control, no obstante, mostraron corpúsculos y túbulos renales con características normales, sin ningún tipo de daño como edema celular, túbulos proximales necróticos con células muertas, acidofilia citoplasmática, gloméruloesclerosis entre otros. El glomérulo es la porción de la nefrona donde se forma el ultrafiltrado del plasma y se rige por procesos físicos a través de los capilares. El túbulo renal comienza como una bolsa ciega que rodea el glomérulo y consta de múltiples segmentos que modifican la composición del ultrafiltrado. Los segmentos del túbulo renal incluyen el túbulo proximal, el asa de Henle, el túbulo distal y el conducto colector. Las propiedades y funciones de estos segmentos pueden conducir a la susceptibilidad de los tóxicos (Hodson, 2010). La inflamación de los glomérulos (glomerulonefritis) se asocia con proteinuria, hematuria y trastornos de la excreción del sodio. También los podocitos pueden verse atrofiados, favoreciendo la filtración de albúmina. Para comprobar esta nefropatía los glomérulos tienen mayor cantidad de células o engrosamiento de la membrana basal (Welsh, 2009). En este estudio el corpúsculo renal presentó una citoarquitectura normal, sin embargo, si se observó un ligero aumento en la cantidad de células presentes en el glomérulo ante la ingesta del extracto de *G. lucidum* en la dosis de 5000 mg/kg peso. Por tanto, se requiere de un estudio posterior de toxicidad crónica y un análisis con otras tinciones para descartar un daño renal a largo plazo.

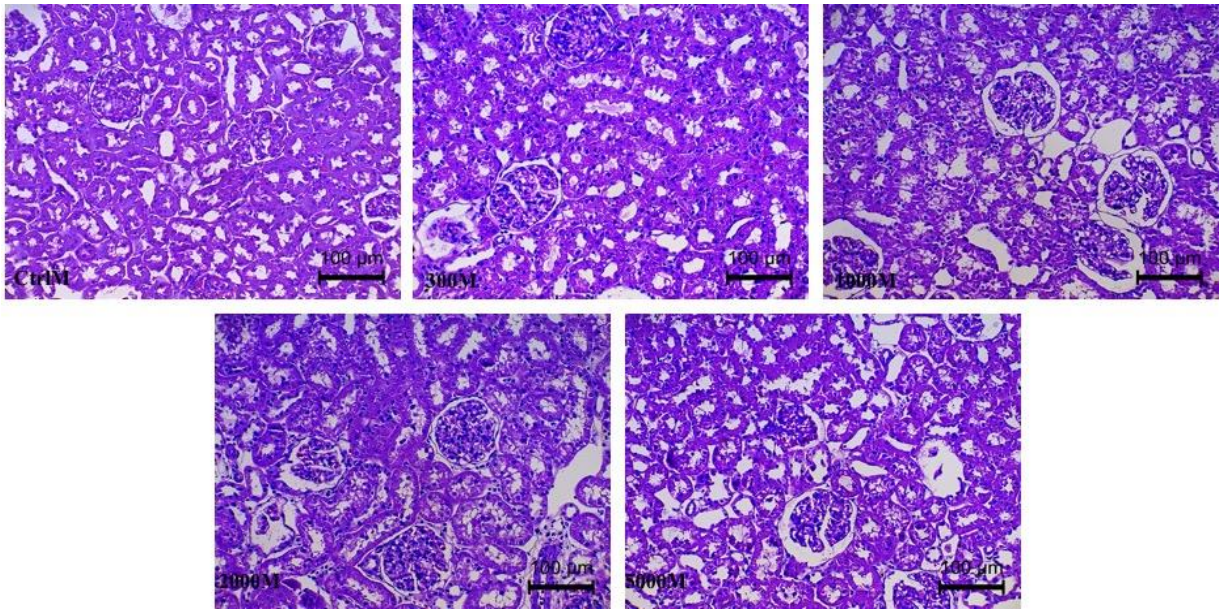


Figura 79. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de *G. lucidum* sobre el corpúsculo renal en ratas machos. Tinción con hematoxilina-eosina (20X). CtrlM (Grupo control machos); 300M (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000M (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000M (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000M (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos).

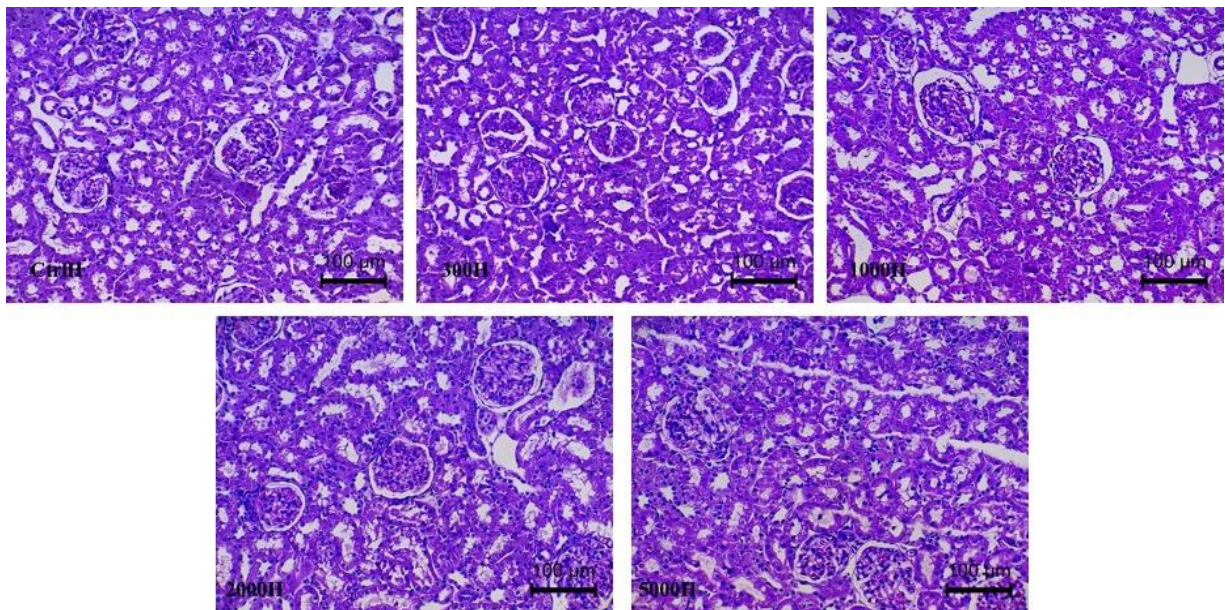


Figura 80. Efecto histológico después de la ingesta del extracto de *G. lucidum* sobre el corpúsculo renal en ratas hembras. Tinción con hematoxilina-eosina (20X). CtrlH (Grupo control machos); 300H (Grupo de dosis 300 mg/kg peso machos); 1000H (Grupo de dosis 1000 mg/kg peso machos); 2000H (Grupo de dosis 2000 mg/kg peso machos); 5000H (Grupo de dosis 5000 mg/kg peso machos).

9. CONCLUSIÓN

Se evaluó la ingesta aguda del extracto del hongo mexicano *G. lucidum* en ratas Wistar de acuerdo al protocolo no. 423 de la OECD/OCDE. Contrastando la hipótesis planteada en este trabajo el extracto de *G. lucidum* no causó muerte, toxicidad, cambios de comportamiento y físico ni daño en la función hepática y renal en ninguna de las dosis empleadas. Con base en los resultados obtenidos, se concluye lo siguiente:

1. Las ratas machos y hembras no presentaron cambios en la apariencia física durante los 14 días. Respecto al comportamiento, el grupo de dosis 300 mg/kg peso en machos y la dosis de 5000 mg/kg peso en hembras se mostraron ligeramente hiperactivas respecto al grupo control.
2. El aumento de peso corporal y la ingesta de alimentos fue mayor en los machos que en hembras. No se observaron anomalías físicas en hígado y riñón, ni aumento del tamaño o peso proporcional del hígado y riñón de los diferentes grupos experimentales respecto al control.
3. El extracto de *G. lucidum* mantiene constante los niveles de glucosa en plasma en ratas machos, sin embargo, en ratas hembras se observó una tendencia a disminuir de forma dosis dependiente debido al efecto de los compuestos bioactivos del extracto.
4. Las dietas experimentales adicionadas con el extracto de *G. lucidum* presentaron un efecto estabilizador del perfil lipídico en ratas machos y hembras.
5. La ingesta del extracto de *G. lucidum* en hembras disminuye los niveles de ALT y AST en las dosis de 300, 1000 y 2000 mg/kg peso, en machos ambos parámetros se mantienen estables.
6. Los niveles de albúmina plasmática, proteína C reactiva y creatinina se mantuvieron estables en ambos sexos. Las concentraciones de urea en plasma se observaron constantes en ratas machos, sin embargo, en hembras fueron más susceptibles ante la ingesta del extracto, debido a que esta especie de *G. lucidum* tiene un alto contenido proteico. Las ratas hembras mostraron mayor sensibilidad ante la ingesta del extracto de *G. lucidum* en los parámetros de orina.
7. A nivel histológico no se observaron daños en el tejido hepático y renal de las ratas hembras y machos después de la ingesta aguda del extracto de *G. lucidum*.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, I.; Lakhani, M.S.; Gillett, M.; John, A.; & Raza, H. (2001). Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Research and Clinical Practice* 51, 155–161.
- Agius, L. (2007). New hepatic targets for glycemic control in diabetes. *Best practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 21(4), 587–605.
- Aguilar, G. (2012). La Biotecnología de Hongos una Buena Oportunidad para la *Colaboración*. *Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería*. 16 (4). Recuperado de: https://smbb.mx/wp-content/uploads/2017/10/Revista_2013_V17_N1.pdf
- Alvarado, R.D., Saavedra, R. L., Almaraz, S.A., Tlapal, B.B., Trejo, R.O., Davidson, J., et al. (2007). Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en el Centro-Oeste de México. *Polibotánica*, (23), 1-21.
- Álvarez, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21 (Supl. 2) 61-72. Recuperado de: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v21s2/original6.pdf>
- American Dietetic Association. (2009). Position of the American Dietetic Association: Functional foods.
- Andresen, M. (2006). Estrés oxidativo en el paciente crítico. *Revista Médica Chilena*. 134: 649-656.
- Appleton, A., & Van Bergen, O. (2013). Lo esencial en metabolismo y nutrición. Barcelona, España: Elsevier Science.
- Aranceta, J., & Serra, L. (s.f.). Guía de alimentos funcionales. Recuperado de *Sociedad Española Nutrición Comunitaria*: <http://www.nutricioncomunitaria.org/es/>
- Arencibia, D.F., Rosario, R.F., López, Y., Fariñas, M., Franciso, J., Díaz, D., et al. (2003). Algunas consideraciones sobre la determinación de la toxicidad aguda. *Retel: Revista de toxicología en línea*, 1-15. Recuperado de <https://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=672>
- Arvanitoyannis, I. K. (2005). Functional foods: A survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Critical Review Food Science Nutrition*, 45, 385-404.
- Austin, G.T. (1984). *Shreve's Chemical Process Industries*, 5ta edición. McGRAW-HILL, Nueva York.
- Barreto R., & Guevara M. (2013). Biomarcadores de insuficiencia renal: un <<trending topic>> en cirrosis. *ELSEVIER DOYMA*.; 36 (6): 407-421.
- Bastami, M.S., Bohari S. P., Har, W. M., Wahab, M. N., Rahmani, A. S., & Hamid, M. (2007). Hypoglycemic, Insulinotrophic and Cytotoxic Activity of three species of *Ganoderma*. *Malaysian Journal of Science* 26 (2), 41-46.

- Bazzano, T., Restel, I.T, Porfirio, C.L., Schiaveto de Souza, A., & Silva, S.I. (2015). Renal biomarkers of male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) undergoing renal ischemia and reperfusion. *Acta Cirurgica Brasileira* 30, 4.
- Bayer. (2017). Bayer and Animal Studies. Recuperado de: <https://www.animalstudies.bayer.com/en/our-responsibility.aspx>
- Belitz, H.D., & Grosch, W. (1988). Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza.
- Berger, A., Rein, D., Kratky, E., Monnard, I., Hajjaj, H., Meirim, I., et al. (2004). Cholesterol-lowering properties of *Ganoderma lucidum* in vitro, ex vivo, and in hamsters and minipigs. *BioMed Central* 3, 1-12.
- Bhatnagar, A., & Srivastava, S.K. (1992) Aldose reductase: congenial and injurious profiles of an enigmatic enzyme. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 48(2), 91–121.
- Boa, E. (2005). FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-y5489s.pdf>.
- Bonventre, J.V., Vaidya, V.S., Schmouder, R., Feig, P. & Dieterle, F. (2010): Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nature Biotechnology* 28, 436-440.
- Bravo, L. (1998). Poliphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56 (11): 317-333.
- Burke, M.D. (1975). Liver function. *Hum Pathol*, 6: 273-286.
- Caballero B, & Popkin B. (2002). The nutrition transition diet and disease in the developing world. *Elsevier Science*, 1-6.
- Caesar, R., Fak, F., & Backhed, F. (2010). Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. *Journal of International Medical Research* 268(4):320–328.
- Castillo, I. (2016). *El ácido acetilsalicílico como inductor de enzimas lacasas para desarrollar las aplicaciones de Ganoderma en México*. Colegio de Posgraduados, Campus, Puebla.
- Cao, Q., & Lin, Z. (2006). *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide inhibits the growth of vascular endothelial cell and induction of VEGF in human lung cancer cell. *Life Sciences*, 78: 1457-1463.
- Cao, Y., Wu, S.H., & Dai, Y.C. (2012). Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”. *Fungal Diversity*. 56: 49-62.
- Chang, S.T. & Miles. P.G. (1989). Overview of the biology of the fungi. In: edible mushrooms and their cultivation, 41-79.
- Chang, S.T., & Buswell, J.A. (1999). *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromyceti- deae) a mushrooming medicinal mushroom. *Int. J. Med. Mushrooms*, 1 (2), 139–146.
- Chaves, F., Gutiérrez, J.M., Lomonte, B., & Cerdas, L., (1989). Histopathological and biochemical alterations induced by intramuscular injection of Bothrops Asper (terciopelo) venom in mice. *Toxicon*; 27(10): 1085-93.

- Cheatham, B, Vlahos, C.J., Cheatham, L., Wang, L., Blenis, J., & Kahn, C.R. (1994). Phosphatidylinositol 3-kinase activation is required for insulin stimulation of pp70 S6 kinase, DNA synthesis, and glucose transporter translocation. *Molecular Cell Biology* 14(7):4902–11.
- Chen, J.H., Zhou, J.P., Zhang, L.N., Nakumura, Y., Norisuye, T. (1998). Chemical structure of the water-insoluble polysaccharide isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*. *Poly. J.* 30, 838–842.
- Chen, R.Y., & Yu, D.Q., (1993). Studies on the triterpenoid constituents of the spores from *Ganoderma lucidum* Karst. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences.* 2(2), 91–96.
- Chen, J., & Seviour, R., (2007). Medicinal importance of fungal beta-(1–3), (1–6)-glucans. *Mycology Research*, 111:635–52.
- Chiu, S., Wang Z., Leung, T., & Moore, D., (2000). Nutritional Value of *Ganoderma* Extract and Assessment of its Genotoxicity and Anti-genotoxicity using Comet Assays of Mouse Lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 173-178.
- Chopra, M., Galbraith, S., & Darnton-Hill, I. (2002) A global response to a global problem: The epidemic of overnutrition. *Bull World Health Organ*, 80:952-8.
- Cuadrado, A., & Crespo, J. (2004). Hipertransaminasemia en pacientes con negatividad de marcadores virales. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 484-500.
- Combs, A.P. (2010). Recent advances in the discovery of competitive protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for the treatment of diabetes, obesity, and cancer. *Journal of medicinal chemistry.* 53 (6), 2333–2344.
- Convention on biological diversity. (1992). Recuperado de <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-en.pdf>
- Coronado M., Vega y León, S., Gutierrez, R., Vázquez, M. & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, Vol.42, 2.
- Cutten, A.E., Hasnain, S.M., Segedin, B.P., Bai, T.R., & McKay, E.J., (1988). The basidiomycete *Ganoderma* and asthma: collection, quantitation and immunogenicity of the spores. *The New Zealand Medical Journal* 101, 361–363.
- Damaso, A.R., do Prado, W.L., de Piano, A., Tock, L., Caranti, D.A., Lofrano, M.C. et al. (2008). Relationship between nonalcoholic fatty liver disease prevalence and visceral fat in obese adolescents. *Digestive and Liver Disease* 40: 132–139.
- Deepalakshmi, K, Mirunalini, S., Krishnaveni, M., & Arulmozhi, V. (2013). In vitro and in vivo antioxidant potentials of an ethanolic extract of *Ganoderma lucidum* in rat mammary carcinogenesis. *Chinese Journal of Natural Medicines* 11: 621-627.
- Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. (1999). *Ganoderma lucidum* Spore Powder. Washington, United States of America.

- Díaz, E.L., Duarte de Prato, A., Sánchez, A.M. (s.f.) *Alimentos nutraceuticos, suplementos dietéticos y plantas medicinales*. Instituto del Frío. CSIC. Madrid.
- Díaz, M. R., Marmolejo J.G., & Valenzuela R. (2005). Flora micológica de bosques de pino y pino-encino en Durango, México. *Ciencia UANL*. 8 (3): 362-369.
- Díaz-Moreno, R., Valenzuela, R., Marmolejo, J.G., Aguirre-Acosta, E. (2009). Hongos degradadores de la madera en el estado de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 80: 13-22.
- Draibe S.A., & Cendoroglo, M., (2001). Tratamento conservador da insuficiência renal crônica. *Rev Diagn Tratamento*. 6(2):17-23.
- Donal, J. Ecobichon, Ed. *The Basis of Toxicity*. 2a Edición, Press 1997.
- Dufour, D.R., Lott, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff R.S., & Seeff L.B. (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clinical Chemistry* 46: 2050-2068.
- Elberry, A.A., Harraz, F.M., Ghareib, S.A., Gabr, S.A., Nagy, A.A., & Abdel-Sattar, E. (2011). Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Diabetes Mellitus*. 11, 1877–1878.
- ENSANUT MC (2016). Últimas cifras de diabetes en México. Recuperado de <http://fmdiabetes.org/wp-content/uploads/2017/04/ENSANUT2016-mc.pdf>
- Espenshade, P.J., & Hughes, A.L. (2007). Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. *Annu Rev Genet*. 41:401–27.
- FAO. (s.f.). Enfermedades crónicas con implicaciones nutricionales. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0r.htm>
- FAO. (2012). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf>
- Fatmawati, S., Kurashiki, K., Takeno, S., Kim, Y.U., Shimizu, K., Sato, M. et al. (2009). The inhibitory effect on aldose reductase by an extract of *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 23(1), 28–32.
- Fatmawati, S., Shimizu, K., & Kondo, R. (2010a). Ganoderic acid Df, a new triterpenoid with aldose reductase inhibitory activity from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*. *Fitoterapia*. 81(8), 1033–1036.
- Fatmawati, S., Shimizu, K., & Kondo, R. (2010b). Inhibition of aldose reductase in vitro by constituents of *Ganoderma lucidum*. *Planta Medica* 76(15), 1691–1693.
- Fatmawati, S., Shimizu K, & Kondo, R. (2011a). Ganoderol B: a potent alpha glucosidase inhibitor isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum*. *Phytomedicine* 18(12), 1053–1055.

- Fatmawati, S., Shimizu, K., & Kondo, R. (2011b). Structure-activity relationships of *Ganoderma* acids from *Ganoderma lucidum* as aldose reductase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21(24), 7295–7297.
- Fatmawati, S., Kondo, R., & Shimizu, K. (2013) Structure-activity relationships of lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma lingzhi* as alpha-glucosidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23(21), 5900–5903.
- Feldhammer, M, Uetani, N., Miranda-Saavedra, D., & Tremblay, M.L. (2013). PTP1B: a simple enzyme for a complex world. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 48: 430–445.
- Fernández, D.E., Fernández, J. E., Moreno M.I., & Moreno, M.M. (2008). *Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. Medicina & Laboratorio*.14: 533-546.
- Frye L.L., & Leonard D.A. (1999). Lanosterol analogs: dual-action inhibitors of cholesterol biosynthesis. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 34:123-140.
- Gao, X.X., Fei, X.F, Wang, B.X., Zhang, J., Gong, Y. J., Minami, M., et al. (2000). Effects of polysaccharides (FI0-b) from mycelium of *Ganoderma tsugae* on proinflammatory cytokine production by THP-1 cells and human PBMC (I). *Acta Pharmacologica Sinica* 21: 1179–1185.
- Gao, J.J., Min, B.S., Ahn, E.M., Nakamura, N., Lee, H. K., & Hattori, M. (2002a). New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50: 837–840.
- Gao, Y., Zhou, Sh., Chen, G., Dai, X., & Ye, J. (2002b). A phase I=II study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. extract (ganopoly) in patients with advanced cancer. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 4 (3), 207–214.
- Gao, Y., Zhou, Sh.; Huang, M., Xu, A. (2003a). Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (Aphyllophoro- mycetidae): a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 5 (3), 235–246.
- Gao, Y.H., Huang M., Lin, Z.B., & Zhou, S.F. (2003b) Hepatoprotective Activity and the Mechanisms of Action of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi Mushroom) (Aphyllophoromycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 5: 111-131.
- Gao, Y., Lan, J., Dai, X., Ye, J., Zhou, Sh. (2004a). A phase I=II study of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum*. (W. Curt.: Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetidae) extract in patients with type II diabetes mellitus. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 6 (1).
- Gao, Y., Chen, G., Dai, X., Ye, J., Zhou., S. (2004b). A Phase I/II Study of Ling Zhi Mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetidae) extract in patients with coronary heart disease. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 6: 30-38.

- Ganeshpurkar, A., Rai, G., & Jain, A., (2010). Medicinal mushrooms: Towards a new horizon. *Pharmacognosy Review*, 4(8), 127-135.
- Gill, S.K., & Rieder, M.J. (2008). Toxicity of a traditional Chinese medicine, *Ganoderma lucidum*, in children with cancer. *Canadian Journal of Clinical Pharmacology* 15(2), 275–85.
- Guillamon, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A, Villares, A., et al. (2010). Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia*, 81(7):715–723.
- Guillen-Navarro, K.G., Márquez-Rocha, F.J., & Sánchez Vázquez, J.E. (1998). Producción de biomasa y enzimas lignolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Revista Iberoamericana de Micología* 15: 302-306.
- Goff, D.C Jr, Gerstein, H.C., Ginsberg, H.N., et al. (2007). Prevention of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus: current knowledge and rationale for the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *American Journal of Cardiology*, 99:4i–20i.
- Gong, F., Li, F., Zhang, L., Li, J., Zhang, Z., & Wang, G. (2009). Hypoglycemic effects of crude polysaccharide from Purslane. *International Journal of Molecular Science* 10, 880–888.
- González, A. G., León, F., Rivera, A., Padron, J. I., González-Plata, J., Zuluaga, J. C., et al. (2002). New lanostanoids from the fungus *Ganoderma concinna*. *Journal of Natural Products* 65: 417–421.
- González, B. (2015). *Cultivo de hongos con propiedades funcionales y medicinales: obtención, selección y caracterización de cepas de Ganoderma sobre subproductos de regiones forestales*. Colegio de Posgraduados, Campus, Puebla.
- González Díaz, M. I. (2016). *Alimentos funcionales obtenidos a partir de hongos nutracéuticos*. Pereira, Colombia.
- Goldstein J.L., DeBose-Boyd., R.A., & Brown M.S. (2006). Protein sensors for membrane sterols. *Cell*. 124:35–46.
- Goldstein J.L., & Brown A.J. (2002). Cholesterol addition to ER membranes alters conformation of SCAP, the SREBP escort protein that regulates cholesterol metabolism. *Molecular cell*.10(2):237-45.
- Hajjaj, H., Mace, C., Roberts, M., Niederberger, P., & Fay, L.B. (2005). Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. *Applied and Environmental Microbiology* 71(7), 3653–3658.
- Hall, J.R., Wiechmann, A.R., Johnson, L.A., Edwards, M., Barber. R.C., et al. (2013). Biomarkers of vascular risk, systemic inflammation and microvascular pathology and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimers Disease* 35:363–371.
- Hasler, C. (1996). Functional food: The western prospective. *Nutrition Reviews*, Volumen 54: 506-510.
- Hayase, K., Yokogoshi, H., & Yoshida, A. (1980) Effect of dietary proteins and amino acid deficiencies on urinary excretion of nitrogen and the urea synthesizing system in rats. *Journal of Nutrition* 110:1327–1337.

- Herbert, A., Gerry, N.P., McQueen, M.B., Heid, I.M., Pfeufer, A., Illig, T., et al. (2006). A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity. *Science*. 312:279–83.
- Hernández, Á. *Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos* (Vol. 2). Madrid: Médica Panamericana. 2010.
- Hikino, H., Konno, C., Mirin, Y., et al. (1985) Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies 1. *Planta Med* 51, 339–340.
- Hirotsu, M., Asaka, I., & Furuya, T. (1990) Investigation of the biosynthesis of 3 α -hydroxy triterpenoids, ganoderic acids T and S, by application of a feeding experiment using [1,2-¹³C₂] acetate. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans 1*: 2751–2754.
- Hobbs, Ch. *Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing, and Culture*, 2nd Ed.; Botanica Press, Inc.: Santa Cruz, CA, USA, 1995.
- Hodson, E. (2010). *A textbook of Modern Toxicology*. 4th ed. 291-301.
- Holmes, C. (2013). Review: Systemic inflammation and Alzheimer's disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 39:51–68.
- Horton, J.D., Goldstein, J.L., & Brown, M.S. (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation* 109:1125–31.
- Hsu, M.J., Lee, S.S., & Lin, W.W. (2002). Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* inhibits spontaneous and Fas-mediated apoptosis in human neutrophils through activation of the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt signaling pathway. *Journal of Leukocyte Biology* 72:207–16.
- IFT. (2007). Expert report on functional foods: opportunities and challenges. Recuperado de: http://www.ift.org/~media/Knowledge%20Center/Science%20Reports/Expert%20Reports/Functional%20Foods/Functionalfoods_expertreport_full.pdf
- IQB. (s.f). Principios de toxicología. Recuperado de: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox02.htm>
- INEGI/SS. (2014). Estadísticas vitales. Defunciones generales 2000-2014. CONAPO. Proyecciones de población 1990-2030. Recuperado de: <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/registros/vitales/mortalidad/>
- INEGI. (2016). Estadísticas de mortalidad. Recuperado de: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo125&s=est>
- ILSI. (2009). Perspectives on ILSI's International Activities on Functional Foods. Recuperado de: <http://ilsi.org/mexico/wp-content/uploads/sites/29/2016/09/Perspectives-on-ILSIs-International-Activities-on-Functional-Foods.pdf>
- Jacobson, K.D., & Keller, K.A. (2008) *Toxicology testing handbook*.

- Jensen, P.K., Christiansen, J.S., Steven, K., & Parving, H.H. (1981). Renal function in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 21: 409-414.
- Jia, J.X., Zhang, Y., Hu, Y., Wu, Q., Wang, N., & Li, N. (2009). Evaluation of in vivo antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chemistry* 115: 32–36.
- Jian, G.W., Yong, J.K., Yan, B.W., Jun, Y., Ti, Q.C., & Jin, Z.W. (2016) Hepatoprotective effect of *Ganoderma* triterpenoids against oxidative damage induced by tert-butyl hydroperoxide in human hepatic HepG2 cells, *Pharmaceutical Biology*, 54:5, 919-929.
- Jin, H., Jin, F., Jin, J.X., Xu, J., Tao, T.T., Liu, J., & Huang, H.J., (2013). Protective effects of *Ganoderma lucidum* spore on cadmium hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 52 171–175.
- Jones, M.L., Martoni, C.J., Parent, M., & Prakash, S. (2012). Cholesterol-lowering efficacy of a microencapsulated bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults. *British Journal of Nutrition* 107(10):1505–1513.
- Jong, S.C., & Birmingham, J.M. (1992). Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. *Advances in Applied Microbiology* 37, 101–134.
- Jurado, C. R. *Toxicología Veterinaria*. 2a. ed. Salvat Editores, Barcelona, España, 1989.
- Kawagishi, H., Fukuhara, F., Sazuka, M., Kawashima, A., Mitsubori, T., & Tomita, T. (1993). 50 - Deoxy-50-methylsulphonyl adenosine, a platelet aggregation inhibitor from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* 32: 239–241.
- Kabir, Y., Yamaguchi, M., & Kimura, S. (1987). Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushrooms on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology (Tokyo)*, 33:341–6.
- Kabir, Y., Kimura, S., & Tamura, T. (1988). Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Journal of Nutrition Science and Vitaminology* 34, 433–438.
- Kabir, Y. & Kimura, S. (1989). Dietary mushrooms reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Journal of Nutrition Science and Vitaminology (Tokyo)*, 35:91–4.
- Krapivner, S., Chernogubova, E., Ericsson, M., Ahlbeck-Glader, C., Hamsten, A., & van't Hooft, F.M. (2007). Human evidence for the involvement of insulin-induced gene 1 in the regulation of plasma glucose concentration. *Diabetologia*, 50:94–102.
- Kino, K., Yamashita, A., Yamaoka, K., Watanabe, J., Tanaka, S., Ko, K., et al. (1989). Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, Ling Zhi-8 (LZ-8), from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Biological Chemistry* 264(1), 472–478.

- Kino, K., Mizumoto, K., Sone, T., Yamaji, T., Watanabe, J., Yamashita, A., et al. (1990). An immunomodulating protein, Ling Zhi-8 (LZ-8) prevents insulinitis in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 33(12), 713–718.
- Kiho, T., Morimoto, H., Sakushima, M., et al. (1995). Polysaccharides in fungi. XXXV. Antidiabetic activity of an acidic polysaccharide from the fruiting bodies of *Tremella aurantia*. *Biol Pharmaceutical Bulletin* 18:1627–9.
- Kim, D.H., Shim, S.B., Kim, N.J., & Jang, I.S., (1999). Beta-Glucuronidase inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 22, 162–164.
- Kim, Y. S., Eo, S. K., Oh, K. W., Lee, C. K. & Han, S. S. (2000). Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with interferons. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 451–458.
- Kim, Y.W., Kim, K.H., Choi, H.J, et al. (2005). Anti-diabetic activity of beta-glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnology Letter* 27:483–7.
- Kimura, Y., Taniguchi, M., & Baba, K., (2002). Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. *Anticancer Research* 22: 3309–3318.
- Knight, J.A. (2002). Liver function: test selection and interpretation of results. *Clinics in Laboratory Medicine*, 22:377-390.
- Knochel, J.P. *Nefropatía por pigmentos*. En: Tratado de las enfermedades renales. National Kidney Foundation. 2°Ed. Madrid: Harcourt Brace, 1999, p 283.
- Kok, N., Roberfroid, M., & Delzenne N. (1996). Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. *Metabolism clinical and Experimental*; 45: 1547-50.
- Komoda, Y., Shimizu, M., Sonoda, Y., et al. (1989) Ganoderic acid and its derivatives as cholesterol synthesis inhibitors. *Chemical Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* 37, 531–533.
- Konopski, Z., Smedsrod, B., Seljelid, R., & Eskelend, T. (1994). A novel immunomodulator soluble aminated b-1,3-D-glucan: binding characteristics to mouse peritoneal macrophages. *Molecular Cell Research* 1221, 61–65.
- Koren, O., Spor, A., Felin, J., Fak, F., Stombaugh, J., Tremaroli, V., et al. (2011). Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 Suppl 1:4592–4598.
- Lai, K.N., Chan, L.Y., Tang, S.C., et al. (2006) *Ganoderma* extract prevents albumin-induced oxidative damage and chemokines synthesis in cultured human proximal tubular epithelial cells. *Nephrology Dialysis Transplant* 21, 1188–1197.
- Landeros, F., Castillo, J., Guzmán, G., & Cifuentes, J. (2006). Los hongos (macromicetos) conocidos en el Cerro Zamorano (Querétaro-Guanajuato), México. *Revista Mexicana de Micología* 22: 25-31.

- Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D., López L., & Torres, M., (2008). *Fundamentos Teórico- Prácticos de Química Orgánica*. Brujas. Argentina. Pp. 41-48.
- Lee, J.M., Kwon, H., Jeong, H., et al. (2001) Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 15, 245–249.
- Lee, W.M. (1993). Acute liver failure. *The New England Journal of Medicine*, 329:1862-1872.
- Li, F., Zhang, Y., & Zhong, Z. (2011). Antihyperglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on streptozotocin-induced diabetic mice. *International Journal of Molecular Sciences* 12(9), 6135–6145.
- Li, P. & Zhang, K. (2000). Isolation, purification and bioactivities of exopoly saccharides from fermented broth of *Ganoderma lucidum*. *Acta Microbiologica Sinica* 40: 217–220.
- Li, Q., Fang, L., & Zhang, C. (2007). Structure and bioactivities of a galactose rich extracellular polysaccharide from submergedly cultured *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers* 68: 323–328.
- Li, Y., Yang, Y., Fang, L., Zhang, Z., Jin, J., & Zhang, K. (2006) Anti-hepatitis activities in the broth of *Ganoderma lucidum* supplemented with a Chinese herbal medicine. *The American Journal of Chinese Medicine*, 34 (2), 341-3449.
- Lin, C.N., Tome, W.P., Won, S.J. (1991). Novel cytotoxic principles of Formosan *Ganoderma lucidum*. *Journal of Natural Products* 54, 998–1002.
- Liang, H., Loo, T.Y., Yeung, B.H., & Cheung, M. (2008). A non-toxic herbal remedy which enhance lymphocyte activity and cytokine secretion: *Ganoderma lucidum*. *African Journal of Biotechnology*, 7, 4010-4014.
- Liang, C.J., Lee, C.W., Sung, H.C., Chen, Y.H., Chiang, Y.C., Hsu, H.Y., et al. (2014). *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Reduce Lipopolysaccharide-Induced Interleukin-1 β Expression in Cultured Smooth Muscle Cells and in Thoracic Aortas in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Lu, Q.Y., Jin, Y.S., Zhang, Z., Heber, D., Go, V.L.W., Li, F.P., et al. (2004). *Ganoderma lucidum* extracts inhibit growth and induce actin polymerization in bladder cancer cells in vitro. *Cancer Letters* 216: 9-20.
- Ma, H.T., Hsieh, J.F., & Chen, S.T. (2015). Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* 114, 109–113.
- Mansi, K., Amneh, M., & Nasr, H. (2007). The Hypolipidemic Effects of *Artemisia sieberi* (A. herba alba) in Alloxan Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmaceutics* 3, 487–491.
- Mato, J.M., Álvarez, L., Ortiz, P., & Pajares, M.A. (1997). S-adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacology & Therapeutics* 73: 265-280
- Martin, M. G., & Molina, A. Z. (s.f.). Transaminasas: Valoración y significación clínica. Sevilla, España. Recuperado de <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/transaminasas.pdf>

- Martínez-Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 5-18.
- Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M. & Martínez, W. (2006). México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. En: El cultivo de Pleurotus en México. ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS, México, D.F.
- Martínez-Carrera, D., Pérez-Armendáriz, B., Mayett, Y., Sobal, M., Morales, P., Ramírez P., et al. (2014). *Propiedades funcionales agregadas al tequila, otros mezcales y destilados de Agave convencionales, derivadas del extracto de un hongo comestible de uso tradicional en México (Lentinula boryana)*. (COLPOS) IMPI-MX/2009/042387.
- Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Tovar, A., Torres, N., Meneses, M.E., Sobal, M., et al. (2016). Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. Capítulo 30. Pp 581-640.
- Martínez-Carrera D., Ramírez-Juárez, J. (2016). Ciencia, tecnología e innovación en el sistema agroalimentario de México. 1st ed. San Luis Huexotla: Editorial del Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT- UPAEP-IMINAP.
- Mattila, P., Suonpää, K., & Piironen, V. (2000). Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition*, 16:694–6.
- Martínez, I., Wallace, G., Zhang, C., Legge, R., Benson, A.K., Carr, T.P., et al. (2009). Diet-induced metabolic improvements in a hamster model of hypercholesterolemia are strongly linked to alterations of the gut microbiota. *Applied Environmental Microbiology*, 75(12):4175–4184.
- Mayzumi, F., Okamoto, H., & Mizuno, T. (1997). Cultivation of Reishi *Ganoderma lucidum*. *Food Reviews International* 13: 365-382
- McCormack, J.G., Westergaard, N., Kristiansen, M., Brand, C.L., & Lau, J. (2001). Pharmacological approaches to inhibit endogenous glucose production as a means of anti-diabetic therapy. *Current Pharmaceutical Design* 7(14), 1451–1474.
- McKenna, D.J; Jones, K.; & Hughes, K. Reishi Botanical Medicines. The Desk reference for Major Herbal Supplements, 2nd Ed.; The Haworth Herbal Press: New York, London, Oxford, 2002; 825–855.
- Min, B. S., Gao, J. J., Hattor, M., Lee, H. K., & Kim, Y. H. (2001). Anticomplement activity of terpenoids from the spores of *Ganoderma lucidum*. *Planta Medical*, 67: 811–814.
- Mizuno, T. (1995). Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: bioactive substances and medicinal effects. *Food Reviews International* 11 (1), 151–166.
- Mizuno, T. (1997). Studies on bioactive substances and medicinal effect of Reishi, *Ganoderma lucidum*. pp. 121-127. in Japanese. In: *Proceedings 1st International Symposium Ganoderma lucidum in Japan* (ed. A. committee), Toyo-Igaku-sha Co., Ltd., Tokyo, Japan.

- Meneses, M.E., Martínez-Carrera, D., Tovar, A. R., Morales, P., Sobal, M., Bernabé, T., et al., (2014). Nutrigenómica de la interacción hongos comestibles, funcionales y medicinales- metabolismo de lípidos: su impacto potencial en obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. Simposio general Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México (noviembre 26-28). CP-AMP-CONACYT-UPAEP, Puebla, Puebla.
- Meneses, M.E., Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Escudero, H., Sánchez, M., et al. (2015a). Beneficial effects of extract from Mexican genetic resources of *Ganoderma lucidum* on cholesterol metabolism and gut microbiota in C57BL6 mice. 17th International Symposium on Atherosclerosis, International Atherosclerosis Society (mayo 23-26), Amsterdam, Holanda.
- Meneses, M.E., Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bernabé, T., Granados- Portillo, O., et al. (2015b). A *Ganoderma lucidum* extract derived from Mexican genetic resources and its effect on lipid metabolism gene expression and liver fatty acid composition. *The FASEB Journal 29 (one supplement)*: 271.4
- Meneses, M.E., Martínez-Carrera, D., Torres, N., Sánchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Morales, P., et al. (2016). Hypocholesterolemic Properties and Prebiotic Effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 Mice. (G. Li Volti, Ed.) Puebla, Puebla, México: *PLOS ONE*.
- Mirunalini, S. & Deepalakshmi, K. (2013). Modulatory effect of *Ganoderma lucidum* on expression of xenobiotic enzymes, oxidant-antioxidant and hormonal status in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinoma in rats. *Pharmacognosy Magazine*, 9(34), p.167.
- Moncalvo, J. M. & Ryvarden F. (1998). Nomenclature of Ganodermataceae. *Synopsis Fungorum* 11: 1-109.
- Montgomery, C.A. (1990). Oncologic and toxicologic research: alleviation and control of pain and distress in laboratory animals. *Cancer Bull.* 42(4): 230-237.
- Monjo, M, Rodríguez, A, Palou, A, & Roca, P. (2003). Direct effects of testosterone, 17 beta-estradiol, and progesterone on adrenergic regulation in cultured brown adipocytes: potential mechanism for gender-dependent thermogenesis. *Endocrinology*, 144: 4923-30.
- Montaño, A., Valenzuela, R., Sánchez, A., Coronado, M., & Esqueda, M. (2006). Aphylophorales de Sonora, México, I. Algunas Especies de la Reserva Forestal Nacional y Refugio de Fauna Silvestre Ajos-Bavispe. *Revista Mexicana de Micología* 23: 17-26.
- Montier, A. L., Ramos, A.L., Gómez, M.L., Pérez, J.J., & Quintana, Q. (2015). Estrés oxidativo en la diabetes mellitus papel de la vitamina E y antioxidantes endógenos. *Revista de Ciencias Médicas*, 973-985.
- Monsalud M., & Díaz, M.J. (2013). Nuevos biomarcadores de insuficiencia renal aguda. *Sociedad Española de Medicina de Laboratorio* 16: 41 - 51.

- Moreno, A., Gonzálo, L., Mendoza, J., García, L., & Moreno, R. Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *Anales de medicina interna* 2007; 24:38-46.
- Moreno-Rico, O., Velásquez-Valle, R., Sánchez-Martínez, G., Siqueiros-Delgado, M.E., Cerda-Lemus, M., & Díaz-Moreno, R. (2010). Diagnóstico fitopatológico de las principales enfermedades en diversas especies de encinos y su distribución en la sierra fría de Aguascalientes, México. *Polibotánica* 29: 165-189.
- Mueller, A., Raptis, J., Rice, P.J., Kalbfleisch, J.H., Stout, R.D., Ensley, H.E., et al. (2000). The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1,3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology*, 10, 47. 339–346.
- Muller, C.I., Kumagai, T, O’Kelly, J., Seeram, N.P., Heber, D., & Koeffler, H.P. (2006). *Ganoderma lucidum* causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells. *Leukemia Research*, 30:841-848.
- Muñoz, A.M., Alvarado, U.C., & Encina, Z.C. (2011). Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. *Revista Horizonte Médico*, 11(2). 93-99.
- Naoi, Y. (1997). Artificial cultivation of “Reishi”: To harvest the highest-quality *Ganoderma lucidum*. Pp. 160-162. In: *Proceedings of the 1st International Symposium Ganoderma lucidum in Japanese* (ed. A. committee), Toyo-Igaku-sha Co., Ltd., Tokyo, Japan.
- National Heart, Lung, and Blood Institute. (2012). ¿Cómo se tratan el sobrepeso y la obesidad? Recuperado de <https://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/obe/treatment>
- National Kidney Foundation (NKF). (2002). KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Disease*. 39: S1-S266.
- Nemoto, Y., Toda, K., Ono, M., Fujihawa-Adachi, K., Saibara, T., Onishi, S., et al. (2002). Altered expression of fatty acid metabolizing enzymes in aromatase deficient (ArKO) mice. *Journal of Clinical Investigation* 105: 1819-25.
- NIH (s.f.). Glosario. Recuperado de <http://www.msal.gov.ar/inc/acerca-del-cancer/glosario/>
- Ngai, P. H. & Ng, T. B. (2004). A mushroom (*Ganoderma capense*) lectin with spectacular thermostability, potent mitogenic activity on splenocytes, and antiproliferative activity toward tumor cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 314: 988– 993
- Núñez-Cortés J.M. *Dislipidemia aterogénica*. Elsevier. 2017. Volumen 29 (2).
- Oh, W., Lee, C.K., Kim, Y.S., Eo, S.K., & Han, S.S. (2000). Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine. *Journal of Ethnopharmacology* 72: 221– 227.
- Oluba, O.M., Adebisi, K.E., Eidangbe, G.O., Odutuga, A.A., & Onyeneke, E.C. (2014). Modulatory effect of crude aqueous extract of Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes), on

hematological and antioxidant indices in Plasmodium berghei-infected mice. *Internacional Journal of Medical Mushrooms*, 16:499-506.

OMS. (2016a). Obesidad y sobrepeso. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>

OMS. (2016b). Perfiles de los países para la diabetes. Recuperado de http://www.who.int/diabetes/country-profiles/mex_es.pdf?ua=1

OMS & FAO. (2003). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-ac911s.pdf>

Ortiz, T.L. & Rivasplata, S.J. (2015). Incremento de la inmunidad y la productividad en pollos de engorde con el uso del hongo *Ganoderma lucidum*, como aditivo en la alimentación en una explotación avícola intensiva. *Pueblo Continente*, 26(1).

Ooi, S., Ooi, V.C., & Fung, M.C. (2002). Induction of gene expression of immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharide from *Ganoderma lucidum* (Curt. Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetideae). *International Journal of Medical Mushrooms* 4: 27– 35.

Pan, D., Zhang, D., Wu, J., Chen, C., Xu, Z., Yang, H., & Zhou, P. (2013). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of a novel proteoglycan from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies on db/db mice and the possible mechanism. *PLOS ONE* 8(7), e68332.

Paredes, O. & Valverde, M. E. (2006). Los recursos nutraceuticos y medicinales que Mesoamérica le ha dado al mundo. *Cinvestav*, 65-73.

Paterson, M. (2006). *Ganoderma*-A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry* 6: 1985– 2001.

Plat J., & Mensink, R.P. (2005). Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. *American Journal of Cardiology*, 96: 15D-22.

Pratt D.S., & Kaplan, M.M. (2002). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, 342: 1266-71.

Petlascalco, B. I. (2016). *Caracterización y viabilidad financiera de extractos hidroalcohólicos de Ganoderma lucidum por maceración, como estrategia de aprovechamiento de los recursos genéticos nativos*. Colegio de Posgraduados, Campus Puebla.

Pepys, M.B., & Hirschfield, G.M. (2003) C-reactive protein: a critical update. *Journal of Clinical. Investigation* 111, 805– 1812.

Porras, A.P., & López, A. (2009). *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos*. Temas selectos de Ingenieria de Alimentos 3-1: 121-134.

Quimio, T. H. (1986). Culturing *Ganoderma* the “Pleurotus-way”. *Mushrooms Newsletter for the Tropics* 6: 12-13.

- Quiriz, F. (2012). *Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de dos especies del hongo medicinal Ganoderma nativo de México y su contribución al desarrollo regional*. Colegio de Postgraduados Campus, Puebla. Pp. 98.
- Ramacharaka, Y. (s.f.). *Asociación AMYCO*. Recuperado de: <https://asociacionamyc.files.wordpress.com/2012/06/la-ganoderma.pdf>
- Ramírez, R., & Soto, N.E. (s.f.). Estudios pre-clínicos y clínicos. Recuperado de Cofepris: <http://www.cofepris.gob.mx/AS/Documents/RegistroSanitarioMedicamentos/ESTRUCTURA%20DE%20EXPE DIENTES/11%20ESTUDIOS%20PRE%20Y%20CLINICOS.pdf>
- Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43:439-463.
- Rendón, G.A. (2015). *Caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México*. Colegio de Posgraduados, Campus Puebla.
- Repa, J.J., Liang, G., Ou, J., Bashmakov, Y., Lobaccaro, J.M., Shimomura, I., et al. (2000). Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes & Development*. 14(22):2819–2830.
- Ríos-Cañavate, J. L. (2008). *Ganoderma lucidum*, un hongo con propiedades inmunoestimulantes. *Revista de Fitoterapia*, 8 (2), 135-146.
- Rivera, M., Macias, L., Tinoco, M., Gracia, I., & Ruíz, L. (2006). Toxicidad aguda en rata y ratón de la casiopeína II (gli). 2° Congreso Nacional de Química Médica.
- Rodríguez, B.H., Aguilar M.A., García, C.L., García, D.D., Lacio Alvarado, A.A., Lecca, Z.J., et al. (2015). Efecto de la hipoalbuminemia sobre la diuresis en ratas. *Revista médica de Trujillo* 11:2.
- Rodríguez, M., Díez, M.L., Vaquero, J.J., & Rodríguez, D. (2010). *Biomarcadores en el diagnóstico de las patologías renales*. Universidad de Alcalá.
- Roglans, N., Vilà, L., & Laguna, J. (2007). Reducción en la actividad de transactivación y transrepresión de PPAR en un modelo experimental. *Clinica e Investigación en Arteriosclerosis*, 19: 1-12.
- Romero-Bautista, L., Pulido F.G., & Valenzuela, R. (2010). Estudio micoflorístico de los hongos poliporoides del estado de Hidalgo, México. *Polibotánica* 29: 1-28.
- Salgado, R., Arias, J., & Acosta, A. D.C. (2016). Estudio químico de la fracción de acetato de etilo del hongo *Ganoderma lucidum* cultivado en desechos agroindustriales. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Seo, G. S., & Kirk P. M. (2000). *Ganodermataceae: Nomenclature and classification*; Capítulo 1. Págs. 3-45. *In Ganoderma Diseases of Perennial Crops*. Eds. J. Flood, P. D. Bridge y M. Holderness. CABI, U. K.

- Seto, S.W., Lam, T.Y., Tam, H.L., et al. (2009) Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/ diabetic (p db/p db) mice. *Phytomedicine* 16, 426 – 436.
- Schemmel, K.E., Padiyara, R.S., & D'Souza, J.J. (2010). Aldose reductase inhibitors in the treatment of diabetic peripheral neuropathy: a review. *Journal of Diabetes and its Complications*. 24(5), 354–360.
- Schimke, R.T. (1962) Differential effects of fasting and protein-free diets on levels of urea cycle enzymes in rat liver. *Journal of Biological Chemistry* 237:1921–1924
- Shang, C.H., Shi, L., Ren, A., Qin, L., & Zhao, M.W. (2010) Molecular cloning, characterization, and differential expression of a lanosterol synthase gene from *Ganoderma lucidum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 74: 974–978.
- Shao, B. M., Dai, H., Xu, W., Lin, Z.B., & Gao, X.M. (2004). Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 323: 133-141.
- Shiao, M.S. (1992) Triterpenoid natural products in the fungus *Ganoderma lucidum*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 39: 669–674.
- Shiao, M.S., Lee K.R., Lin, L.J., & Wang, C.T. Natural products and biological activities of the Chinese medicinal fungus *Ganoderma lucidum*. Food Phytochemicals for cancer prevention II. Teas, spices and herbs. ACS Symposium series 547 (Ho CT, Osawa T, Huang MT, Rosen RT (editors), pp 342-345. ACS: Washington, 1994.
- Shiao, M. (2003). Natural products of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum*: Occurrence, biological activities, and pharmacological functions. *Chem Rec* 3:72-180.
- Shi, Y., Sun, J., He, H., Guo, H., & Zhang, S. (2008). Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 117:415–19.
- Silvia, D. (2003). *Ganoderma lucidum* in cancer research. *Integrative Cancer Therapies*; 30: 767-768
- Singh, A.B., Gupta, S.K., Pereira B.M., & Prakash, D. (1995). Sensitization to *Ganoderma lucidum* in patients with respiratory allergy in India. *Clinical and Experimental Allergy* 25(5), 440–447
- Smania, A., Monache, F., Smania, E., & Cuneo, R. (1999). Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllophoromycetideae) fruit body. *International Journal Medical Mushrooms* 1: 325–330.
- Smith, J., Rowan, N., & Sullivan, R. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Reino Unido: University of Strathclyde; 2002.
- Smiderle, F.R., Ruthes, A.C., & Iacomini, M. (2015). Natural Polysaccharides from Mushrooms: Antinociceptive and Anti-inflammatory Properties. *Bioactivity and Biotechnology* 2051– 2178.

- Soo, T.S. Effective dosage of the extract of *Ganoderma lucidum* in the treatment of various ailments. In *Mushroom Biology and Mushroom Products*; Royse, Ed.; The Pennsylvania State University, 1996; 177–185.
- Solomon, P.W., (2005). Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). *Encyclopedia of Dietary Supplements*; 603-622.
- Stamets, P. (1993). *Ganoderma lucidum* (Wm, Curtis: Fries) Karsten. In: *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms* (ed. P. Stamets), Ten Speed Press, Berkeley, CA, Pp. 355-369.
- Su, J., Fann, F., Chung, I., Won, J., & Lin, N. (2000). New lanostanoids of *Ganoderma tsugae*. *Journal of Natural Products* 63: 514–516.
- Suarez-Medellín, J., Luna-Rodríguez, M., Mendoza, G., Salinas, A., Quiroz, M.L.S., & Trigos A., (2012). Caracterización morfológica y molecular de una cepa silvestre mexicana perteneciente al género *Ganoderma*. *Revista Mexicana de Micología* 36: 33-39.
- Sudheesh, N.P., Ajith, T.A., Mathew J., Nima, N., & Janardhanan, K.K., (2012). *Ganoderma lucidum* protects liver mitochondrial oxidative stress and improves the activity of electron transport chain in carbon tetrachloride intoxicated rats. *Hepatology Research*. 42: 181–191.
- Sun, X., Yu, Y., & Han, L. (2013) High FFA levels related to microalbuminuria and uncoupling of VEGF-NO axis in obese rats. *International Urology and Nephrology* 45(4):1197–1207
- Talpur, N., Echard, B., Dadgar, A., et al. (2002a). Effects of Maitake mushroom fractions on blood pressure of Zucker fatty rats. *Research Communication in Molecular Pathology and Pharmacology* 112:68–82.
- Talpur, N., Echard, B.W., Fan, A.Y., et al. (2002b). Antihypertensive and metabolic effects of whole Maitake mushroom powder and its fractions in two rat strains. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 237:129–36.
- Talpur, N., Echard, B.W., Yasmin, T., et al. (2003). Effects of niacin-bound chromium, Maitake mushroom fraction SX and (-)-hydroxycitric acid on the metabolic syndrome in aged diabetic Zucker fatty rats. *Mol Cell Biochem*, 252:369–77.
- Tarlo, S.M., Bell, B., Srinivasan, J., Dolovich, J., & Hargreave, F.E., (1979). Human sensitization to *Ganoderma* antigen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 64, 43–49.
- Tello, S.I. (2010). *Diversidad de los recursos genéticos mexicanos del hongo funcional Ganoderma (Fungi Ganodermataceae), conocido como REISHI en los mercados internacionales, y su relevancia para el desarrollo regional*. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla.
- Teng, B.S., Wang, C.D., Zhang, D., Wu, J.S., Pan, D., Pan, L.F., et al. (2012). Hypoglycemic effect and mechanism of a proteoglycan from *Ganoderma lucidum* on streptozotocin- induced type 2 diabetic rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 16, 166–175.

- Theuwissen, E. & Mensink, R.P. (2008). Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology Behavior*. 94(2):285–292. doi: 10.1016/j.physbeh.2008.01.001 PMID: 18302966.
- Thompson, G.R., & Grundy, S.M. (2005). History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes. *American Journal of Cardiology* 96: 3D-9D.
- Tong, C.C., & Chen, Z.C. (1990). Cultivation of *Ganoderma lucidum* (Science) in Malaysia. *Mushroom Journal for the Tropics* 10: 27-30.
- Torres, N., Guevara, G., Velázquez, L., & Tovar, A. (2015). Nutrition and Atherosclerosis. México, D.F., México: ELSEVIER.
- Torres-Torres, M.G. & Guzmán-Dávalos, L. (2005). Notas sobre la variación morfológica de *Ganoderma curtisii* (Ganodermatales, Ganodermataceae) en México. *Revista Mexicana de Micología* 21: 39-47.
- Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C.C., & Fox, J.G. (2006) How to measure renal function in clinical practice. *BMJ* 333:733
- Triratana, S., Thaithatgoon, S. & Gawgla, M. (1991). Cultivation of *Ganoderma lucidum* in sawdust bags. In: Proceedings 13th International Congress Cultivation of Edible Fungi, 1-2 (ed. M. J. Maher). A. A. Balkema Publisher, Dublin, Ireland.
- Ukai, S., Kiho, T., Hara, C., Kurumae I., & Tanak, Y. (1983). Polysaccharides in fungi. XIV. Anti-inflammatory effect of the polysaccharides from the fruit bodies of several fungi. *Journal Pharmacobiology-dynamics* 6: 983–990.
- Ulbricht, C, Isaac R, Milkin T, Poole E, Rusie E, Grimes Serrano J., et al. 2010 An evidence-based systematic review of stevia by the Natural Standard Research Collaboration. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 8(2), 113-127.
- Van der Hem, G., Van der Vlie, A., Bocken, F., Kino, K., Hoitsma, J., & Tax, J., (1995). Ling Zhi- 8: Studies of a new immunomodulating agent. *Transplantation* 60: 438–443.
- Valenzuela, B., Valenz, A., Sanhueza, J., & Morales I.G., (2014). Alimentos funcionales, nutraceúticos y Foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación?. *Revista Chilena de Nutrición*, 41 (2), 198-204.
- Valenzuela, B. R., Tapia, O.G., González, E.M., & Valenzuela B.A. (2011). Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista Chiena del Nutrición*. 38 (3), 356-367.
- Valenzuela, R., De la Huerta, C.P., & Nava, R.F. (2002). Los poliporáceos de México V. Algunas especies del norte del Estado de Querétaro. *Polibotánica* 14: 85-122.

- Wachtel-Galor, S., Szeto, Y.T., Tomlinson, B., & Benzie, I.F. (2004). *Ganoderma lucidum* ('Lingzhi'); acute and short-term biomarker response to supplementation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 55(1):75–83.
- Walker, K.A., Kertesz, D.J., Rotstein, D.M., Swinney, D.C., Berry, P.W., So, O.Y., et al. (1993). Selective inhibition of mammalian lanosterol 14 alpha-demethylase: a possible strategy for cholesterol lowering. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36:2235-2237.
- Wang, F., Zhou, Z., Ren, X., Wang, Y., Yang, R., & Luo, J. (2005). Effect of *Ganoderma lucidum* spores intervention on glucose and lipid metabolism gene expression profiles in type 2 diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*. 14:49.
- Wang, X., Xi, R., Li, Y., Wang, D. & Yao, Y. (2012). The Species Identity of the Widely Cultivated *Ganoderma*, '*G. lucidum*' (Ling-zhi), in China. *PLOS ONE*, 7(7).
- Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B.J., Koeth, R., Levison, B.S., Dugar, B., et al. (2011). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*. 472(7341):57–63.
- Wasser, S.P. & Weis, A.L. *Medicinal Mushrooms. Ganoderma lucidum, (Curtis: Fr.), P. Karst; Nevo, E., Eds.; Peledfus Publ House: Haifa, Israel, 1997; 39.*
- Wasser, S. P. & Weis A.L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a current perspective. *Critical Reviews Immunology* 19: 65-96.
- Welsh, U. (2009). *Histología*. Editorial Médica Panamericana. 2da edición. Buenos Aires, Madrid. 462-468.
- Wians, F. (s.f.). Pruebas de sangre: valores normales. Recuperado de: <https://www.msmanuals.com/es/professional/apéndices/valores-normales-de-laboratorio>
- Wood, D.A. & Fermor, T. R. (1982). Nutrition of *Agaricus bisporus* in compost. *The Mushroom Journal* 114: 194-197.
- Wu, S., Shi, S., & Kuo, C. (2001). Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* triterpenes. *Journal of Natural Products* 64: 1121–1122.
- Xu, J., Liu, W., Yao, W., Pang, X., Yin, D., & Gao, X. (2009). Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. *Carbohydrate Polymers* 78: 227–234.
- Xu, J.W., Zhao, W., & Zhong, J.J. (2010) Biotechnological production and application of ganoderic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87: 457–466.
- Xiao-Ping, C., Yan, C., Shui-Bing, L., You-Guo, C., Jian-Yun, L., & Lan-Ping, L. (2009). Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats. *Carbohydrate Polymers* 77: 389–393.
- You, B.J., Lee, M.H., Tien, N., Lee, M.S, Hsieh, H.C., et al. (2013) A Novel Approach to Enhancing Ganoderic Acid Production by *Ganoderma lucidum* Using Apoptosis Induction. *PLOS ONE* 8(1).

- Yuen, M. & Gohel, I. (2008). The dual roles of *Ganoderma* antioxidants on urothelial cell DNA under carcinogenic attack. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 324–330.
- Zhang, G.L., Wang, H., Teng, L., & Lin, B. (2002). Hepatoprotective role of *Ganoderma lucidum* polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice. *World Journal of Gastroenterology* 8: 728–733.
- Zhang, H.N., He, H., Yuan, L., & Lin, B. (2003). In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage. *Life Sciences* 73: 2307-2319.
- Zhang, H.N., & Lin, B., (2004). Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. *Acta Pharmacologica Sinica* 25: 191–195.
- Zhang, M., Cui, W., Cheung, K., & Wang, Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science and Technology* 18: 4-19.
- Zhang, J., Gao, X., Pan, Y., Xu, N., & Ji, L. (2016). Toxicology and immunology of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in Kunming mice and Wistar rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 302-310.
- Zhao, M.W., Liang, W.Q., Zhang, D.B., Wang, N., Wang, C.G., et al. (2007) Cloning and characterization of squalene synthase (SQS) gene from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 17: 1106–1112.
- Zhang, L.Z., & Feng, L. *Researching the mechanism of GLP's hypoglycemic*. Fujian Med. J. 2004, 3, 48–51.
- Zheng, J., Yang, B., Yu, Y., Chen, Q., Huang, T., & Li, D. (2012). *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Exert Anti-Hyperglycemic Effect on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Through Affecting beta-cells. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 15(7), 542-550.
- Zhou, C.Y., Jia, W., Yang, Y., & Bai, Y.Q., (2002a). Experimental studies on prevention of several kinds of fungi polysaccharides against alcohol-induced hepatic injury. *Edible Fungi* 24, 36–37.
- Zhou, Sh., Gao, Y., Chen, G., Dai, X., Ye, J., & Gao, H. (2002b). A phase I=II study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi mushroom) extract in patients with chronic hepatitis B. *International Journal of Medical. Mushrooms*, 4 (4), 321–328.
- Zhu, M., Chang, Q., Wong, L.K., et al. (1999) Triterpene antioxidants from *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research* 13, 529 – 531.
- Zhu, H.S., Yang, X.L., Wang, L.B., Zhao, D.X., & Chen, L. (2000). Effects of extracts from sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on HeLa cells. *Cell Biology and Toxicology*. 16: 201-206.
- Zjawiony, J.K. (2004). Biologically active compounds from Aphyllphorales (polypore) fungi. *Journal of Natural Products*. 67: 300-310.

11. ANEXOS

11.1 Solución de formalina 10%

Formaldehído 100 ml

PBS1X 900 ml

1. Preparación de PBS10X

NaCl 80 g

KCl 2 g

KH₂PO₄ 2.4 g

Disolver en 800 ml de agua destilada, ajustar pH a 7.4 y aforar a 1 litro.

2. Preparación de PBS1X

PBS10X 100 ml

Agua destilada 900 ml

11.2 Solución salina 9%

NaCl 90 g

Para un litro con agua destilada